

**Untersuchungen
zur symbiontischen Bedeutung der Blinddarmflora
der Nagetiere**

**Inauguraldissertation
der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen**

zur

Erlangung des Doktorgrades

vorgelegt von

Dr. med. Wilhelm Kellner
aus Nürnberg

Berlin-Göttingen-Heidelberg

Springer Verlag

1956

Als Dissertation genehmigt
von der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Erlangen

Tag der mündlichen Prüfung: 22. Februar 1956

Dekan: Universitätsprofessor Dr. Schneider

Berichterstatter: Universitätsprofessor Dr. Stammer

Berichterstatter: Universitätsprofessor Dr. Neuhaus

Sonderdruck aus: Zeitschrift für Morphologie und Ökologie der Tiere
44. Band, Heft 6



Aus dem Zoologischen Institut der Universität Erlangen

UNTERSUCHUNGEN ZUR SYMBIONTISCHEN BEDEUTUNG
DER BLINDDARMFLORA DER NAGETIERE*

Von

WILHELM KELLNER

(Eingegangen am 15. Dezember 1955)

* Herrn Professor Dr. PAUL BUCHNER in Verehrung gewidmet.

Inhalt	Seite
Einführung	518
Mikroskopische Untersuchungen der Darmflora	520
Untersuchungen der Darmflora in Kulturen	529
Plattenversuche	529
Züchtungsversuche in flüssigen Nährmedien	530
Züchtungsversuche in halbstarren Nährmedien	533
Tierversuche	533
Hinderung der Coecotrophie	534
Vitaminzusatzversuche	535
Proteinhaushalt	536
Bildung der Coecotrophie	537
Besiedelung des Neugeborendarmes	538
Keimfreie Aufzucht	541
Antibioticaversuche	541
Diskussion der Ergebnisse	547
Zusammenfassung	551
Literatur	553

Einführung

Die Ansichten über die biologische Bedeutung der Darmflora haben sich seit der Zeit Pasteurs, der als erster auf sie aufmerksam wurde häufig gewandelt. Im Verlauf der seitdem vergangenen 70 Jahre schwankte die Meinung von der Anerkennung ihrer Wichtigkeit bis zu dem extremen Standpunkt eines METSCHNIKOFF, der den Darm als Ort der Autointoxikation ansah und *Bacterium coli* für die „Putrefaktion intestinal“ verantwortlich machte. Es war ein weiter Weg bis zu der Erkenntnis, welche bedeutende Rolle die obligaten Darmbakterien in der Ernährungsphysiologie spielen.

Der weitaus größte Teil der Untersuchungen über die bakteriellen Bewohner des Darmes wurde verständlicherweise der menschlichen Intestinalflora gewidmet. Es waren allerdings nicht die normalen Darmmikroben, denen über lange Zeit hinweg das bakteriologische Interesse galt, sondern die Erreger von mehr oder weniger gefährlichen Erkrankungen. Die gewöhnlich im Darm anzutreffenden Keime aber wurden kaum beachtet und nur nebenbei als Kommensalen ohne weiterreichende Bedeutung abgetan. Daß diese als saprophytisch angesehene

Flora jedoch durchaus nicht so völlig bedeutungslos ist, erkannte man zuerst in der Kinderheilkunde daran, daß Darmstörungen im Säuglingsalter stets mit einem Umschlagen der ursprünglich grampositiven in eine gramnegative Besiedelung einhergehen und die Lactobazillenflora durch eine solche aus Colibakterien verdrängt wird. Diese Feststellungen erwiesen sich jedoch erst in allerjüngster Zeit wiederum als nicht völlig zutreffend, insofern als es sich bei den die übliche *Bifidus*-Flora verdrängenden Colibakterien nicht um gewöhnliche, sondern um ganz spezielle und mit Hilfe der modernen serologischen Aufteilung auch wohl definierbare Rassen handelt. Trotzdem die ersten Beobachtungen sich nachträglich als nicht völlig richtig erwiesen, führten sie doch dazu, daß man die normale Flora des Säuglingsdarmes einer eingehenderen Untersuchung unterwarf. Es war ganz natürlich, daß sich davon ausgehend eine große Anzahl von Arbeiten anschloß, die sich auch mit den Verhältnissen beim Erwachsenen beschäftigten. Dies führte dazu, daß man über die physiologischen Verhältnisse des menschlichen Darmes — man kann wohl heute sagen, schon sehr gut — unterrichtet ist.

Wenn man demgegenüber die Untersuchungen vergleicht, die in der Literatur über die entsprechenden Verhältnisse bei Tieren vorliegen, dann muß man feststellen, daß es sich um wohl wenig mehr als spärliche Kenntnisse handelt. Es sind allenfalls noch die Keime näher untersucht worden, die als Erreger von Zoonosen wirtschaftliche Bedeutung haben oder die geeignet sind, auch als Ausgangspunkt menschlicher Infektionen oder gar Epidemien zu dienen. Darüber hinaus mußte es noch den Veterinär interessieren, bei Darmerkrankungen von größeren und deshalb wertvollen Haustieren die Ursache festzustellen und zu diesem Zweck sich mit der Darmflora dieser Tiere zu befassen. Das äußert sich z. B. auch darin, daß in *BERGEYS Manual* beim Pferd immerhin noch 18 Bakterienarten für den Magen-Darmkanal erwähnt sind.

Für Nagetiere aber liegen relativ wenige Bearbeitungen vor, und so sind für ein doch so häufig verwendetes Laboratoriumstier wie das Meerschweinchen beim Coecum 2 und für den übrigen Darm 4 Bakterienarten angegeben, wobei 4 von ihnen Spirochäten sind. In der Literatur finden sich auch sonst relativ wenig Angaben über die Darmflora der Nagetiere. Über das Meerschweinchen liegen Arbeiten von BAUMATZ, GUTSCHER, GROSSMANN, HERRELL, RUSCHMANN und ROLLE und MAYER (1953) vor. RUSCHMANN beschreibt die Flora als eine vorwiegend grampositive Darmflora und nennt namentlich „Staphylokokken, weniger vergärende Streptokokken, grampositive Stäbchen und meistens auch einige Actinomyccetenkolonien“. Die grampositiven Stäbchen werden vorwiegend der *Subtilis*-Gruppe zugeordnet. ROLLE u. MAYER (1954) fügen dem noch das Vorkommen eines Stäbchens der Lactobazillengruppe zu. Übereinstimmend wird von allen Autoren berichtet, daß *Bacterium coli* nicht zu

der normalen Darmflora des Meerschweinchens gehört. BAUMATZ (1925) beschreibt nur die Flora vom Magen- und Dünndarminhalt und führt dafür auf: *Bacillus subtilis*, Mikrokokken, Streptokokken, grampositive Fäden, Soor und spärlich *Bacterium coli*. GUTSCHER findet den Dünndarm des Meerschweinchens sehr keimarm und normalerweise frei von *Bacterium coli*, den Dünndarm der gesunden Ratte aber regelmäßig von *Bacterium coli* bewohnt.

Es erscheint deshalb wohl angebracht, sich mit den bakteriellen Verhältnissen des Blinddarms der Nager einmal etwas näher zu beschäftigen und den Versuch zu unternehmen, zu klären, welche Rolle bei diesen Tieren die Darmflora spielt¹.

Mikroskopische Untersuchungen

Ordnung Rodentia

Zur Klärung der Verhältnisse in der Zusammensetzung der Blinddarmflora bei den Angehörigen der Ordnung Rodentia wurden zuerst einmal nach GRAM und, wo es notwendig war, auch nach weiteren Spezialmethoden gefärbte Objektträgerausstriche des Blinddarminhaltes gesunder Tiere zugrunde gelegt. Dabei zeigten sich für die einzelnen Spezies folgende Ergebnisse:

Meerschweinchen (Cavia porcellus). Ausgegangen soll werden von den Verhältnissen beim Meerschweinchen, da mir von diesem reichlich für andere Untersuchungen verwendeten Laboratoriumstier stets eine Anzahl frisch getöteter Tiere zur Verfügung stand. Die Tiere entstammten drei örtlich weit voneinander entfernten Zuchten, einer in Oberfranken, der zweiten in Mittelfranken und der dritten aus dem Allgäu, so daß nicht etwa örtliche Besonderheiten ein einseitiges Bild gaben. Die Untersuchungen wurden sofort nach dem Entbluten der Tiere vorgenommen, um postmortale Veränderungen in der bakteriellen Zusammensetzung auszuschließen.

Das mikroskopische Bild der normalen Flora des Meerschweinchenblinddarms ergibt ein deutliches Vorherrschen von drei gramnegativen Mikroben.

1. Am auffälligsten davon ist ein großer 12—15 μ langer und 3—4 μ breiter, mehr oder weniger sichelförmig gebogener Keim mit spitzen Enden, der ohne Ausnahme bei allen gesunden Meerschweinchen angetroffen wird. Er neigt in einzelnen Exemplaren zur Gramlabilität. Als besonderes Charakteristikum gegenüber anderen Bakterien besitzt er häufig, aber nicht immer, ein chromatophiles Körnchen, das stets an der Innenseite der Biegung, in deren Mitte, und zwar nahe an der Wandung

¹ Herrn Prof. Dr. H. J. STAMMER danke ich besonders herzlich dafür, daß er mich auf die Bearbeitungswürdigkeit dieses Fragenkomplexes hingewiesen hat.

gelegen ist. Besonders hervorzuheben ist die elektive Färbbarkeit dieser Körnchen nach der Giemsa-Methode, wobei sie bläulich-violett tingiert werden. Aber auch im Grampräparat sind sie deutlich sichtbar. Es läge nun die Vermutung nahe, daß es sich dabei um eine besondere Anhäufung kernartiger Substanz handeln würde, und aus diesem Grunde versuchte ich die Darstellung sowohl nach der Original-FEULGENschen Methode, als auch in ihrer Abänderung nach REICHENOW mittels Salzsäurehydrolyse und ebenso die TROMMIERSche Färbemethode, gleichfalls wieder mit und ohne vorhergehende Hydrolyse. Nach diesen verschiedenen Methoden jedoch ergab sich kein Anhaltspunkt dafür, daß es sich bei diesen Körnchen um regelrechte Chromatinsubstanz handeln könne. Vielmehr zeigten die Präparate auch hier eine feine Verteilung der Kernsubstanz, wie sie auch bei anderen Bakterien zu beobachten ist. Auch Färbungsversuche mit den Kernfarbstoffen der Histologie, insbesondere mit Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN und der Safraninmethode, ergaben keine verwertbaren Resultate. Die Keime sind monotrich begeißelt und im hängenden Tropfen gut, aber nicht allzu lebhaft beweglich. Charakteristisch ist ihre Fortbewegungsart. Sie schwimmen ein Stück vorwärts, bleiben dann an einer Stelle liegen, bewegen sich auch an der gleichen Stelle um ihre eigene Achse, um schließlich dann nach einiger Zeit wieder an einen anderen Ort weiterzuschwimmen. Dieses Verhalten erinnert sehr an das von Flagellaten, wie man überhaupt, wenn man sie zuerst sieht, viel eher noch an solche als an Bakterien denkt. Am ehesten kann man sie noch in die Verwandtschaft der Vibrionen stellen. Tatsächlich erscheint mir auch die Einreihung in das Genus *Cellfalcicula* WINOGRADSKY, Familie Pseudomonadaceae, nach allen geschilderten Merkmalen als berechtigt.

Rein zahlenmäßig macht dieses Bakterium etwa 30% der Gesamtbakterienpopulation des Meerschweinchenblinddarmes aus. Seiner für Bakterien enormen Größe wegen aber stellt es rein mengenmäßig wohl die Hälfte der vorhandenen Bakteriensubstanz dar.

2. Als nächst auffällige Bakterienart sind die in sehr hoher Anzahl vorhandenen, ebenfalls mit absoluter Regelmäßigkeit beim gesunden Meerschweinchen auftretenden Spirochäten zu nennen. Es handelt sich um eine relativ kleine und feinfädige Art mit nur wenigen (2—4 Windungen; oft aber ist sie auch derart wenig gewunden, daß sie beinahe mit einem Stäbchen der gleich noch zu besprechenden Art zu verwechseln ist. Ihre Länge beträgt bis zu 10μ , die Dicke liegt bei etwa $0,25\mu$. In der Ordnung Spirochaetales führt BERGEY nur eine zellulosespaltende Art, und zwar *Spirochaeta graminea* ZUELZER an. Sie ist aber bei weitem größer als die hier zu beobachtende und hat deshalb sicherlich nichts mit dieser zu tun. Zudem ist sie eine Bewohnerin von Flußwasser. Schließlich liegt auch kein Anhaltspunkt dafür vor, daß die hier interessierende

Spirochäte Zellulose angreift, vielmehr sprechen noch zu erörternde Untersuchungen eher dagegen. Da außer der spärlichen morphologischen Merkmale nur die im Dunkelfeld sichtbare, für Spirochäten charakteristische Bewegungsform anzuführen ist, fällt eine genauere Einreihung in die Ordnung Spirochaetales schwer. Die von BERGEY für den Meerschweinchenblinddarm aufgeführte *Treponema lari* LEBAILLY ist in der Originalliteratur leider so mangelhaft beschrieben, daß eine genaue Identifizierung auf Grund dieser Angaben nicht möglich ist. Immerhin mag sie für diese Art gelten, wenn nicht überhaupt mehrere Arten in Betracht kommen.

3. Als dritter Mikroorganismus ist ein gramnegatives Stäbchen von $0,3-0,5 \mu$ Dicke und $4-8 \mu$ Länge anzuführen. Beweglichkeit im hängenden Tropfen oder Dunkelfeld kann nicht beobachtet werden. Da außer seiner Züchtbarkeit auf Zellulose, auf die im kulturellen Teil eingegangen werden soll, nur geringe weitere biologische Merkmale festzustellen sind, fiel zunächst eine Einordnung in eine Familie nicht leicht. Denn auch die bei BERGEY aufgeführten gramnegativen Zellulose verdauenden Mikroorganismen sind in ihrer meist nur sehr spärlichen Beschreibung mit dem vorliegenden Keim nicht identisch. Wie später noch auszuführen sein wird, stelle ich die Art zum Genus *Cytophaga* und möchte sie als *Cytophaga rodentium* n. sp. bezeichnen.

Die Spirochäten und das gramnegative Stäbchen bilden zahlenmäßig 50—60% der Bakterienflora, wobei das Verhältnis zwischen den beiden Keimen, je nach der Fütterung der Tiere mehr oder weniger wechselt, und zwar überwiegen bei Grünfütterung der Tiere mehr die gramnegativen Stäbchen, bei der winterlichen Heu- und Rübenfütterung mehr die Spirochäten.

4. Neben dieser gramnegativen Flora ist zu der vermutlich obligaten Flora auch ein grampositives Stäbchen zu rechnen. Es zeigt etwa eine Dicke von $0,6-0,8 \mu$ und $2-8 \mu$ Länge. Im Normalfall liegen diese Stäbchen einzeln, doch sind zuweilen auch zwei oder drei als kurze Kette zusammenhängend zu beobachten. Sie machen keinen starren Eindruck, sondern zeigen häufig kaum merkliche Krümmungen, aber manchmal auch stärkere Biegungen. Bei längeren Stäbchen treten an dem gleichen Individuum häufig deutliche Dickenunterschiede auf, so daß sie in ihrem Bild schon von vorneherein auf ihre Zugehörigkeit zu der Familie Lactobacteriaceae hinweisen. Man hat auch manchmal den Eindruck, daß echte Verzweigungen angedeutet sind, aber den völlig sicheren Beweis dafür konnte ich nicht erbringen. Im Dunkelfeldpräparat erweisen sich die Stäbchen als unbeweglich. Über ihr weiteres Verhalten soll im kulturellen Teil noch berichtet werden. Diese vier beim Meerschweinchen ständig vorkommenden Keime scheinen für dieses Tier obligat zu sein. Wieweit sie als echte Symbionten anzusehen sind, d. h. wieweit ihnen

ihr Wirt nicht nur Wohnraum gibt, sondern auch Nutzen aus ihrer Anwesenheit zieht — er kann so weit gehen, daß ohne sie ein Fortleben in Frage gestellt wird —, soll in später zu schildernden Untersuchungen geklärt werden. Der Einfachheit halber soll im folgenden besonders von dem ersten Keim, der mir als der wichtigste erscheint, als Symbionten gesprochen werden.

Die außer den genannten zu beobachtenden Keime gehören wohl nicht zur eigentlichen obligaten Darmflora, seien aber doch der Vollständigkeit halber aufgeführt.

Als auffällige Keime sind grampositive Kokken zu nennen, die sich bei der kulturellen Differenzierung als Enterokokken (*Streptococcus faecalis*) erweisen. *Staphylococcus albus* und *Staphylococcus aureus* sind weiterhin in manchen Fällen zu beobachten, können aber ebensogut auch fehlen.

Aus der Familie Mikroccaceae ist ferner eine Sarcine häufiger festzustellen, die durch ihre besonders großen Zellen auffällt. BERGEY beschreibt eine *Sarcina gigantea*, die im Mageninhalt von Staren vorkommt und mit dieser wohl identisch sein mag.

Die Familie Bacillaceae wird durch mehr oder weniger dicke Stäbchen vertreten, die sich bei der kulturellen Differenzierung in eine Reihe aerober und anaerober Arten aufspalten lassen. Besonders die letzteren sind aus jeder Probe zu züchten und gehören in den Formenkreis *Clostridium lento putrescens*, HERTSALL et RETTGER nach BERGEY, *Bacillus putrificus (coli)* nach der üblichen deutschen Nomenklatur. Weiterhin lassen sich häufig Bakterien aus dem Formenkreis des *Clostridium perfringens*, des *Clostridium bifermentans* und *Clostridium amylobacter* beobachten. Da es sich bei diesen Bakterien um weitverbreitete Umweltbakterien handelt, darf angenommen werden, daß die widerstandsfähigen Bakteriensporen mit dem Futter aufgenommen werden und so nur als Verunreinigung der Darmflora anzusprechen sind.

Bei einem Großteil aller Meerschweinchen kommen mehr oder weniger reichlich etwa 4—5 μ dicke bis zu 100 μ lange Fäden vor. Es zeigt sich eine deutliche Querstreifung durch linsenförmige Einzelzellen, von denen jede ein Chromatinkörperchen enthält. Häufig sind in den Fäden auch Sporen eingelagert. Die Enden können scharf abgebrochen sein, aber auch mit einer geringen Verjüngung rund enden. Im hängenden Tropfen erweisen sich die Fäden als lebhaft beweglich. Es handelt sich um *Oscillospira guilliermondii* CHATTON et PERARD. Aber allein der Umstand, daß man Meerschweinchen findet, die diesen Organismus nicht beherbergen, beweist, daß es sich nicht um einen obligaten Keim handelt. Meist ist aber eine ganze Zucht davon infiziert. Eine pathogene Bedeutung scheint diesem Keim aber nicht zuzukommen, da sich irgendwelche Unterschiede zwischen behafteten und freien Tieren nicht feststellen lassen.

Im mikroskopischen Bild kaum auffallend, bei entsprechend langer Züchtung jedoch ohne Schwierigkeit nachweisbar, sind verschiedene Arten von Actinomyceten, deren Anwesenheit im Futter eigentlich selbstverständlich ist; wird doch von ihnen der Großteil der Bodenflora gebildet. Auf ihre Anwesenheit ist ja überhaupt der Erdgeruch zurückzuführen.

Es muß auffallen, daß dieses wiedergegebene Bild mit den Angaben, die wir über die Darmflora in der Literatur finden, erstaunlich geringe Übereinstimmung zeigt. Dieser Umstand klärt sich jedoch sofort, wenn man beachtet, daß es sich z. B. bei den schon angeführten RUSCHMANNschen Angaben nur um reine Plattenbefunde handelt. Wohl jeder, der einmal Blinddarminhalt von Meerschweinchen ausgestrichen hat, war über das daraus resultierende äußerst spärliche Wachstum erstaunt. Das, was mit den üblichen bakteriologischen Methoden zum Anwachsen kommt, sind tatsächlich nur Zufallskeime, die mit der echten symbiontischen Darmflora des Meerschweinchens nichts zu tun haben. Da in der RUSCHMANNschen Arbeit nirgends etwas von einem mikroskopischen Bild erwähnt wird, darf angenommen werden, daß von dieser Unterlassung her der Irrtum entstand, daß eine grampositive Darmflora vorliegt. Daß nun zu allem Überfluß auch noch die Flora eine Empfindlichkeit zeigt, die der einer grampositiven gleicht, leistete diesem Irrtum Vorschub.

Kurzhohrmaus (Pitymys subterraneus). Die Kurzhohrmaus gleicht in ihrer Blinddarmflora sehr stark der des Meerschweinchens. Ja, die Flora ist hier sogar noch etwas charakteristischer, insofern als hier der Sichelkeim das Bild noch stärker beherrscht. Es handelt sich morphologisch um die gleiche Art mit der charakteristischen starken Biegung, dem chromatophilen Körnchen in der Mitte und den zugespitzten Enden. In diesem Fall macht dieser Keim etwa 60 % der Gesamtflora aus. Daneben findet sich das feine gramnegative Stäbchen, das hier ebenfalls sehr zart gebildet ist und etwa 30 % der Bakterienpopulation bildet, während die Spirochäten fehlen. Die grampositive Flora tritt mit wenigen Sporenbildnern und Angehörigen der Entero- und Mikrokokkengruppe demgegenüber sehr zurück.

Feldmaus (Microtus arvalis). Die Flora der Feldmaus ist ebenfalls fast rein gramnegativer Natur. Die Hauptmasse der gramnegativen Keime wird von dem hier allerdings wesentlich längeren und größeren Stäbchen aus der Gattung *Cytophaga* gebildet also dem Bacterium, das sich beim Meerschweinchen als zellulosespaltend herausstellte. Dieser Keim bildet etwa 70 % der Gesamtflora. Daneben spielt der Sichelkeim nur eine untergeordnete Rolle. Seine Gestalt ist hier sehr schlank und an den Enden stark zugespitzt. Auch hier enthält er meist ein chromatophiles Körnchen. Er bildet hier nur etwa 20 % der Gesamtflora. Der

Rest wird gebildet einmal aus einer Art der beim Meerschweinchen schon beschriebenen Lactobazillen, die aber nur spärlich vertreten sind, aus Enterokokken, die aber nur hier und da eine kleine Gruppe bilden, und endlich aus Sporenbildnern, meist *Bacillus subtilis*. Daneben findet sich fast ebenso häufig ein Sporenbildner mit langen ovalen Sporen und fast stets gramnegativen und nur selten leicht gramlabilen Körpern. Spirochäten sind hier ebenso wie bei der vorhergehenden Art nicht vorhanden.

Wühlmaus (Arvicola terrestris). Die Blinddarmflora der Wühlmaus hat die ausgeprägteste Form aller von mir untersuchten Nagetierarten. Hier beherrscht der Keim der *Cellfalcicula*-Gruppe das mikroskopische Bild mit 70% so vollkommen, daß man die ohnedies viel kleineren übrigen Bakterien dazwischen kaum noch wahrnimmt. Es handelt sich hier um eine Art, die besonders groß und gerade mit wetzsteinartigen Formen vorkommt; nur ganz selten einmal sind Übergänge zu den sichelartigen Formen feststellbar, die aber mit ihrem, wenn auch seltenem Vorkommen die Zugehörigkeit zur *Cellfalcicula*-Gruppe beweisen. Besonders deutlich ist hier auch die Gramlabilität des Keimes ausgeprägt. Daneben sind am häufigsten noch mit 20% die feinen grämnegativen Stäbchen der *Cytophaga*-Gruppe vertreten, die auch bei den anderen Arten bereits beschrieben wurden. Von der grampositiven Flora ist an erster Stelle zu nennen ein hier relativ feinfädiges Bakterium der Familie Lactobacteriaceae, das zu etwa 5% vorkommt. Die restlichen 5% verteilen sich auf mehr als Zufallskeime anzusprechende Bakterienarten, wie Sporenbildner, die bereits beim Meerschweinchen beschriebene, sehr grobkörnige Form der Sarcine und Enterokokken. Auffallend ist auch hier das völlige Fehlen von Spirochäten. Das Bild des Ausstriches wird von der Bakterienpopulation derart stark beherrscht, daß daneben keine Nahrungsbestandteile mehr im mikroskopischen Bild sichtbar sind; diese Tatsache ist bei der Wühlmaus besonders stark ausgeprägt.

Rötelmaus (Clethrionomys glareolus). Die Flora der Rötelmaus ist der der Feldmaus sehr ähnlich. Auch hier herrscht eine fast völlig gramnegative Flora vor. Von grampositiven Bakterien kommt das *Lactobacterium* zu etwa 15% vor. Enterokokken und Sporenbildner der Erd- und Heubazillengruppe sind nur spärlich vertreten; der gramlabile Sporenbildner mit langen ovalen Sporen und nur geringer Auftreibung des Bazillenleibes bildet etwa 5% der Flora. Die Spirochäten, die in diesem Falle um ein geringes gröber sind als beim Meerschweinchen, bilden hier etwa 20% der Bakterienpopulation. Sie sind nur schwach gewunden und besitzen 6—10fache Windungen. Die Enden sind äußerst spitz ausgezogen. Die ganze Spirochäte macht einen wesentlich starrereren Eindruck als die Meerschweinchenart. Das gramnegative Stäbchen ist hier auch etwas länger und gröber als beim Meerschweinchen. Eine *Cellfalcicula*-Art ist hier ebenfalls vertreten, die wesentlich mehr als bei den

vorher beschriebenen Arten der des Meerschweinchens gleicht. Ausgesprochen sichelförmige Keime sind spärlich, meist sind es nur relativ kurze, mehr wetzsteinartige Formen, von denen aber sämtliche Übergänge zu den spärlich vorhandenen Sichelkeimen vorkommen. Die Wetzsteinformen sind nur 2—3mal so lang wie dick, bei ihnen liegen die kaum sichtbaren Chromatinkörnchen nicht so zentral, wie man das bei den sichelartigen Formen zu sehen gewohnt ist.

Goldhamster (Mesocricetus auratus auratus). Die Darmflora des Goldhamsters ist zu etwa gleichen Teilen aus grampositiven und gramnegativen Elementen gemischt. Das grampositive Bild wird beherrscht von einem Bakterium der Lactobazillengruppe, das wohl am ehesten mit *Lactobacterium plantarum* übereinstimmen dürfte. Daneben spielen die übrigen grampositiven Bakterien der Enterokokkengruppe und der grampositiven Erd- und Heubazillen eine relativ untergeordnete Rolle. Die gramnegative Flora wird mengenmäßig beherrscht von den celluloseangreifenden Stäbchen der *Cytophaga*-Gruppe, sowie den Spirochäten, die morphologisch denen ähnlich sind, die beim Meerschweinchen beobachtet werden konnten. Der Sichelkeim ist nur in verhältnismäßig geringer Zahl vertreten und, wie es scheint, auch in einer anderen Art als beim Meerschweinchen, da er wesentlich schlanker ist und seine Enden spitzer auslaufen. Von diesen Keimen sind häufiger Teilungsformen zu beobachten, die in diesem Zustand etwa ein Bild bieten, wie es die Algengattung *Closterium* aus der Familie Desmidiaceen zeigt. Während also dieser Keim sich von dem des Meerschweinchens deutlich unterscheidet, sind die beiden anderen gramnegativen Keime von denen des Meerschweinchens überhaupt nicht zu trennen. Nur ganz spärlich kommen neben den sehr feinen Spirochäten, die in größerer Anzahl vorliegen, auch gröbere Formen mit ebenfalls nur drei bis vier Windungen vor.

Waldmaus (Apodemus sylvaticus). Ein völlig anderes Bild bietet die Blinddarmflora der Waldmaus. Es fällt zuerst die Vielgestaltigkeit der vertretenen Bakterien auf, die wesentlich uneinheitlicher gestaltet ist als bei den vorhergehenden Spezies. In der grampositiven Flora sind keine allzu großen Unterschiede festzustellen, vielleicht nur mit der Ausnahme, daß Lactobazillen nur sehr spärlich vertreten sind. Die Enterokokken und die grampositiven Sporenbildner der Erd- und Heubazillengruppe, voran *Bacillus subtilis*, sowie die *Clostridium*-Arten, machen nur etwa 10% der Gesamtflora aus.

Aus der gramnegativen Flora fallen hier erstmals kurze Stäbchen auf, die nach ihrer Form als zur Coligruppe gehörig anzusprechen sind. Die Kultur ergibt auch reichliches Wachstum von lactosepositiven, aber auch von lactosenegativen Colikolonien. Im mikroskopischen Bild stellen sie etwa 30% der Population.

An weiteren Keimen sind noch Spirochäten aufzuführen, deren Anteil an der Gesamtflora allerdings nur 10% beträgt. Aus der gramnegativen Flora machen die bei den übrigen Arten von Nagetieren schon wiederholt beschriebenen Stäbchen der *Cytophaga rodentium* auch hier noch den Hauptbestandteil aus, wenn sie auch nicht das Bild so beherrschen wie bei den vorhergehenden Floren.

Völlig fehlt hier jede Art von Sichelkeimen. Darüber hinaus ist als auffälliger Unterschied festzustellen, daß die Bakterien gegenüber den ungeformten Bestandteilen der Nahrung wesentlich zurücktreten. Bei den vorausgehend beschriebenen Arten beherrschten die Bakterien so das Gesichtsfeld, daß von der eigentlichen Nahrungssubstanz kaum mehr etwas auffiel. Hier hingegen ist genau das Umgekehrte der Fall.

Hausmaus (Mus musculus). Die Flora des Blinddarms der weißen Laboratoriumsmaus besteht zu etwa 60% aus gramnegativen Stäbchen, von denen wiederum über die Hälfte gramnegative Kurzstäbchen darstellen. Kulturell erweisen sich dieselben als Colibakterien. Daneben kommen spärlich Fusobakterien vor, und neben *Cytophaga rodentium* ein weiterer Teil von gramnegativen Stäbchen, die sich nicht einordnen lassen. Die grampositive Flora zeigt wiederum Sporenbildner der Erd- und Heubazillengruppe und auch Clostridien, die zusammen etwa 10% der Flora ausmachen. Aus der Familie der Lactobacteriaceae findet sich ein Stäbchen, das denen der übrigen beschriebenen Nagetierarten gleicht. Das Bild wird vervollständigt durch Enterokokken, spärlich Staphylokokken und Hefezellen.

Die Flora der wilden Hausmaus gleicht völlig der ihrer domestizierten Albinoförm. Ich möchte deshalb auf die nochmalige Beschreibung verzichten.

Ratte (Rattus norvegicus). Bei der Wanderratte ist schon makroskopisch der kleine Blinddarm auffallend. Die Flora vollends zeigt ähnlich wie bei der Waldmaus ein sehr buntes und uneinheitliches Bild. Keiner der Keime herrscht vor. Aus der gramnegativen Flora ragen zahlenmäßig die bei allen anderen schon beschriebenen feinen Stäbchen der Gattung *Cytophaga* hervor; sie bilden etwa 30% der Gesamtflora. Mit der gleichen Häufigkeit vertreten sind Kurzstäbchen, die kulturell als *Bacterium coli* differenzierbar sind. Sehr vereinzelt kommen gramnegative Kokken der Gattung *Neisseria* vor. Aus der grampositiven Flora fallen die plumpen Stäbchen der Erd- und Heubazillengruppe auf, die jedoch nur 5% ausmachen, weiterhin Clostridien mit etwa gleicher Häufigkeit. Stäbchen der Familie Lactobacteriaceae sind mit etwa 10% vertreten, der Rest verteilt sich auf Kokken, unter denen besonders die Enterokokken stark vorherrschen. Die vielgestaltige Flora tritt aber neben den Nahrungsstoffen völlig zurück, und man muß im Präparat,

ganz anders als etwa bei der Mikrotinenflora, zwischen den Detritusmassen die Bakterien regelrecht aufsuchen.

Ordnung Hasenartige (*Lagomorpha*)

Feldhase (*Lepus europaeus europaeus*). Demgegenüber bieten die Hasenartigen ein völlig anderes Bild. Als erster Vertreter sei hier das Bild beim Feldhasen geschildert. Es wird beherrscht von einer grampositiven Flora, die als auffallendsten Vertreter viele plumpe Stäbchen der Sporenbildner-Gruppe aufweist. Kulturell lassen sich diese vor allem als *Bacillus subtilis* bestimmen, daneben kommen aber auch *Bacillus mesentericus* und *Bacillus mycoides* vor. Von anaeroben Sporenbildnern finden sich tetanomorphe Bazillen, aber auch reichlich *Clostridium perfringens*. Aus der grampositiven Flora begegnet man weiterhin noch relativ häufig einem Keim aus der Gruppe der Lactobazillen. Enterokokken, weiße Staphylokokken und Sarcinen sind demgegenüber spärlicher vertreten. An gramnegativen Keimen ist zahlenmäßig sehr häufig *Cytophaga rodentium* vertreten, das bei Meerschwein-

Tabelle 1. Flora in Prozenten

Ordnung	Familie	Unterfamilie	Art	<i>Cytophaga</i>	<i>Lactobacterium</i>	Spirochäten	<i>Cellulacirula</i>	Coli	Sporenbildner und andere
Lagomorpha			<i>Oryctolagus cuniculus</i>	30	25				45
			<i>Lepus europaeus</i>	30	25				45
Rodentia	Muriidae	Murinae	<i>Apodemus sylvaticus</i>	40	10	10		30	10
			<i>Rattus rattus</i>	30	10	20		30	10
			<i>Mus musculus</i>	40	20	10		20	10
		Crice- tinae	<i>Mesocricetus auratus</i>	20	40	20	10		10
			<i>Clethrionomys glareolus</i>	40	15	20	20		5
		Micro- tinae	<i>Microtus arvalis</i>	70	5		20		5
			<i>Arvicola terrestris</i>	20	5		70		5
			<i>Pitymys subterraneus</i>	30	5		60		5
	Caviidae	Caviinae	<i>Cavia porcellus</i>	30	5	30	30		5

chen und auch allen anderen aufgeführten Arten bereits beschrieben wurde. Daneben finden sich noch gramlabile kleinste Bakterien von Form und Lagerung der *Haemophilus*-Arten.

Kaninchen (Oryctolagus cuniculus cuniculus). Vom Kaninchen standen nur domestizierte Vertreter zur Verfügung. Die Blinddarmflora gleicht hier praktisch der des Feldhasen, vielleicht nur mit dem einen Unterschied, daß die plumpen Stäbchen der Sporenbildner nicht ganz so stark das Feld beherrschen wie bei diesem. Ganz vereinzelt sind hier nur zusätzlich Sproßpilzzellen zu beobachten, die aber gut futterbedingt sein können.

Am auffälligsten gegenüber den anderen beschriebenen Arten ist bei diesen beiden Spezies das völlige Fehlen sowohl des Sichelkeimes als auch der doch sonst so häufig vorhandenen Spirochäten.

Eine vergleichende Übersicht der Blinddarmflora der untersuchten Arten gibt Tabelle 1.

Untersuchungen in Kulturen

Zur Erfassung der Blinddarmflora des Meerschweinchens in Kulturen wurde zunächst mit den in der allgemeinen Diagnostik üblichen Nährböden begonnen. Es ergab sich dabei nur relativ sehr geringes Wachstum, und zwar konnten bei den Ausstrichen auf Nähragar üblicher Zusammensetzung beobachtet werden: *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus albus*, *Staphylococcus citreus*, *Staphylococcus aureus*, *Sarcina lutea*, *Bacillus megatherium*, *Bacillus mycoides*. Alle diese Keime konnten jeweils nur von Fall zu Fall in Einzelkolonien beobachtet werden, so daß sie als zufällige Verunreinigungen der Darmflora anzusprechen sind. Im anaeroben Verfahren mittels Anreicherung in Tarozzi-Bouillon und nachfolgendem Ausstrich auf Zeissler-Platten konnten nachgewiesen werden *Clostridium perfringens*, *Clostridium putrificum tenuis*, *Clostridium amylobacter* und *Clostridium lento putrescens*, *Clostridium tetanomorphum*. Auch bei diesen anaeroben Keimen ist der Nachweis im Blinddarminhalt nicht regelmäßig zu führen, sondern gelingt nur von Fall zu Fall.

Plattenversuche

Da dieses erzielte Wachstum mit der aus dem mikroskopischen Präparat bekannten Zusammensetzung keine Übereinstimmung zeigte, wurde zu hochwertigeren Nährboden übergegangen. Es wurden verwendet: 1. Agarnährboden mit 10% Hammelblutzusatz (die übliche „Blutplatte“). 2. Agarnährboden mit Zusatz von 2% Glukose. 3. Agarnährboden mit Zusatz von 10% Serum. 4. Agarnährboden mit Zusatz von 20% Ascites. 5. Elektivzüchtungsnährböden nach ENDO, 6. nach CLAUBERG. 7. nach CHAPMAN-STONE. 8. Harnstoffagar nach CHRISTENSEN, 9. Glycerin-Kartoffel-Blutagar nach BORDET und GENGOU, 10. Blutalkaliagar nach DIEUDONNÉ, 11. Desoxycholat nach MOSER, 12. Desoxycholat Citrat-Agar nach LEIFSON, 13. Lackmus-Lactoseagar nach DRIGALSKY, 14. Wismut-Sulfit-Nährboden nach

WILSON-BLAIR, 15. Eisenagar nach KLIGLER, 16. Ammonagar nach HOHN, 17. Pferdeblutdextroseagar nach NOELLER, 18. Galle-Blutagar, 19. Cystin-Milchzucker Leberagar nach BLAUROCK, 20. Eisenchlorid-Sulfit-Gelatine nach THEMANN 21. Harnstoff-Dextrose-Agar nach PREUSS, 22. Eiernährboden 1 nach HOHN 23. Eiernährboden 4 nach HOHN, 24. Eiernährboden nach LÖWENSTEIN, 25. Eiernährboden nach PETRAGNANT, 26. Gelatineagar nach CLARK, 27. Blut-Dextrose Cystinagar nach FRANCIS, 28. Blutwasseragar nach CASPER u. BIELING, 29. Lackmus-Zucker-Ascites-Agar nach LINGELSHEIM mit Saccharose, 30. mit Laevulose, 31. Maltose, 32. Mannit, 33. Lactose, 34. Kochblutagar nach LEVINTHAL, 35. Blutröstplatte nach WETHMAR, 36. Glycerinagar mit 2% G, 37. Schokoladenagar nach MÜHLENS, 38. Dextrose-Blutagar nach ZEISSLER, 39. N-N-N-Agar nach NOVY, MACNEAL u. NICOLLE, 40. Pilonagar, 41. Brom-Thymolblau-Metachromgelb-Molkeagar nach WINKLE, 42. Tomatensaftagar, 43. Würzeagar, 44. Leberbouillon-glycerinagar, 45. erstarrte Traubenzuckerserumplatten nach LÖFFLER, 46. erstarrtes Glycerinserum, 47. Gelatineplatten, 48. Grützeagar, 49. Maltoseagar nach SABOURAUD. Die Nährböden wurden jeweils aerob und anaerob nach der FORTNERSchen Methode angesetzt. Dabei ergab sich gegenüber dem einfachen Nähragar im allgemeinen kein zusätzliches Wachstum mit Ausnahme des Wachstums von Bakterien der Familie Lactobacteriaceae, die besonders auf dem Cystin-Milchzucker-Leberagar nach BLAUROCK, aber auch auf Blutwasseragar und Ascitesagar im anaeroben Verfahren zum Wachstum kamen. Die im Originalpräparat nachweisbaren gramnegativen Keime kamen aber auch auf all den angeführten Platten nicht zum Wachstum.

Züchtungsversuche in flüssigen Nährmedien

Es wurde deshalb in einer anderen Versuchsserie zuerst einmal die Züchtung in flüssigen Nährböden versucht. Die Untersuchung erfolgte jeweils im Reagenzglas in normaler Füllhöhe von etwa 10 cm³ unter den dabei herrschenden halb anaeroben Verhältnissen und unter Überschlachtung mit Paraffinum liquidum zur Erzielung von völlig anaeroben Verhältnissen. An Zusätzen zu üblicher Bouillon wurden verwendet: Kohlenhydrate wie Dextrose, Lactose, Maltose, Laevulose, Saccharose, Raffinose, Arabinose, Xylose, Rhamnose; weiterhin Salicin, Adonit. Dulcit, Mannit, Sorbit, Inosit, Natriumcitrat, Kalium-d-Tartrat, Natriummucate, Harnstoff, Harnsäure; Aminosäuren wie Asparagin, Cystin, Prolin, Leucin usw. Reinvitamine und Vitaminkombinationen wie Ascorbinsäure, Aneurin, Biotin. Nikotinsäureamid, Hefautolysat, Polyvitaminkonzentrat Dr. GRANDEL, Leberextrakt; Natriumthioglykolat, Hirnbrei, Lebermilch usw. Bei all diesen flüssigen Nährböden kam es stets zu starker Überwucherung, im einen Fall durch die Enterokokken, im anderen unter stark anaeroben Verhältnissen meist durch die vorhandenen Clostridien. Eine Vermehrung der als Symbionten anzusehenden Bakterien ließ sich auf diesem Wege jedenfalls nicht erzielen. Nur die grampositiven Lactobazillen kamen zu einer stärkeren Vermehrung und ließen sich auf diese Weise bei Sekundärkulturen isolieren.

Um die natürlichen Verhältnisse möglichst nachzuahmen, wurde der Versuch unternommen, die Züchtung im Dünndarminhalt frisch getöteter Meerschweinchen zu versuchen. Jedoch auch hier erfolgte eine Überwucherung durch andere Keime. Weiterhin wurde der Blinddarminhalt in Kochsalz aufgeschwemmt, abzentrifugiert und als Nährboden, bzw. auch als Zusatz zu verschiedenen Kombinationen verwendet, die den physiologischen Verhältnissen als möglichst angepaßt erscheinen mußten, jedoch auch diese Versuche verliefen mehr oder minder negativ, insofern als eine wirkliche Züchtung der in Frage stehenden Keime nicht gelang.

Es wurde nunmehr von dem Gedanken ausgegangen, die unerwünschten Begleitkeime durch entsprechende Zusätze von Antibiotica zu schädigen und so die überwuchernden Konkurrenten des vielleicht gegen ein Medikament nicht so empfindlichen Sichelkeimes niederzuhalten. Von den gleichzeitig laufenden Tierversuchen her, war Neomycin noch als das günstigste erschienen. Jedoch auch hiermit ließ sich eine Reinzüchtung, insbesondere des Sichelkeimes nicht erzielen. Es wurden auch die schon durch die Antibiotikagaben an die Tiere von Begleitkeimen relativ gereinigten Blinddarminhalt als Ausgangspunkt für die Züchtung verwendet, dabei aber kam es ebenfalls nicht zu einer merklichen stärkeren Vermehrung der Sichelkeime. Man konnte allenfalls von einer Verlängerung der Lebensdauer der in den Nährboden eingepflichten Bakterien sprechen. Die einzige Methode, die von einer tatsächlichen echten Züchtung hätte sprechen lassen können, die der fortgesetzten Subkultur im gleichen Milieu, gelang jedenfalls nicht.

In einer weiteren Untersuchungsreihe wurden die obigen Versuche kombiniert unter Zusatz von Zellulose in Form eines reinen Zellulosepulvers von Schleicher & Schüll. Dabei wiederum waren es vorzugsweise die Sporenbildner, die mit ihrer starken Wachstumstendenz die übrigen Keime überwucherten.

Von dem Gedanken ausgehend, es müsse verhütet werden, daß die Saprophyten durch die allzu reichlich angebotenen Nährstoffe in ihrer Entwicklung so begünstigt würden, daß sie die vielleicht mit wesentlich geringeren Nährbodenansprüchen zufriedenen Symbionten stets überwuchern, wurden in einer anderen Versuchsserie als Nährbodengrundlage verschiedene Primitivgrundlagen verwendet. Es kam ein Salzmedium zur Anwendung, das sich in anderen Untersuchungen zur Physiologie des Aminosäurestoffwechsels von *Bacterium coli* bewährt hatte, nämlich einer Lösung von K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , $MgSO_4$, Na-Citrat, $(NH_4)_2SO_4$.

Damit wurden praktisch sämtliche Versuche mit den Substanzen, die oben bereits als Zusatz zur Bouillon aufgeführt wurden, aerob und anaerob, mit und ohne Zellulose, mit und ohne Antibiotika wiederholt. Ohne Erfolg.

Da der Weg der Vollbeimpfung mit dem Gemisch an Bakterien, wie es im Blinddarm vorliegt, sich als nicht gangbar gezeigt hatte, sah ich keinen anderen Weg, als zu versuchen, durch Einkeimbeimpfung zu primären Reinkulturen zu gelangen. Es wurde deshalb Blinddarminhalt derart stark verdünnt, daß nach der Wahrscheinlichkeit in jedem zweiten Tropfen nur noch ein Bakterium zu vermuten war und mit einer derartigen Aufschwemmung wurden jeweils 100 Nährböden der gleichen Art mit einem Tropfen beimpft. Aus gebotener Sparsamkeit konnten diese Versuche nicht mit sämtlichen bereits vorher einmal beschriebenen Nährböden durchgeführt werden. Es wurden deshalb nur verwendet: gewöhnliche Bouillon, Leberbouillon und der synthetische Nährboden. Diese drei Nährböden wurden jeweils mit und ohne Zellulose und diese beiden Variationen wieder aerob und anaerob angelegt. Schließlich wurde dieser ganze Versuch auch noch ohne und mit Zusatz von Hefeautolysat zur Vitaminanreicherung durchgeführt. Auch so summierten sich die verwendeten Röhren auf 2400.

Durch diese Methode wurden nun tatsächlich in einzelnen Röhren Reinkulturen erzielt, während etwa die Hälfte bis $\frac{1}{3}$ aller Röhren überhaupt kein Wachstum zeigten. Unter den angegangenen Röhren befanden sich auch solche, die Wachstum von feinen gramnegativen Stäbchen zeigten, die besonders in dem synthetischen Nährboden unter Zellulosezusatz sowohl „aerob“ als auch anaerob (d. h. ohne und mit Paraffinüberschichtung) auf den Zellulosefasern zur Entwicklung kamen. Eine etwa zu erwartende Trübung des über dem Zellulosesatz stehenden

klaren Nährbodens war nicht zu erzielen, vielmehr konnten die Bakterien stets nur im mikroskopischen Präparat als einzelne Zelluloseteilchen bevölkernde Keime beobachtet werden. Nach diesem Vorkommen aus den Zelluloseteilchen mußte angenommen werden, daß sie diese als Nährsubstrat verwenden. Diese Vermutung wird bestärkt durch die Tatsache, daß ein Überimpfen der bewachsenen Zelluloseteilchen auf andere zellulosefreie Nährböden zu keinem weiteren Wachstum führt. Andererseits konnte aber ein merkliches Abnehmen der Zellulose auch bei wochenlanger Bebrütung nicht beobachtet werden, so daß von dieser Seite her die Destruktion der Zellulose durch die Bakterien nicht zu beweisen ist. Des geringen Wachstums wegen konnten auch weitere physiologische Eigentümlichkeiten des Bakteriums nicht nachgewiesen werden, so daß sogar die Einordnung in das System trotz gelungener Züchtung nicht mit letzter Sicherheit möglich ist. Immerhin ist nach den wenigen bekannten Eigenschaften noch am wahrscheinlichsten eine Einordnung in die Familie der Cytophagaceae aus der Ordnung Myxobacteriales, wie bereits oben bemerkt. Bei den aus dieser Familie beschriebenen Keimen handelt es sich um Bewohner des Bodens, denen sämtlich die Fähigkeit der Zelluloseverwertung zugeschrieben wird. Mit einer der beschriebenen Arten ist der Organismus nicht zu identifizieren, da für die bekannten Arten von *Cytophaga* als Bodenbewohner eine Optimaltemperatur weit unter der des Blinddarms angegeben wird. Zum anderen ist überhaupt keine Art als bei einem Lebewesen vorkommend beschrieben. Es muß aber doch wohl angenommen werden, daß die ursprünglich terrestrischen Bewohner die Arten sind, aus denen sich die jetzt symbiontischen Spezies entwickelten. Bei der Züchtung in der zellulosehaltigen synthetischen Nährbrühe verfärbt sich die Zellulose etwas grau. Auch bei den terrestrischen Arten wird Pigmentbildung beschrieben, wobei die verschiedensten Farben entwickelt werden. In der Flexibilität, in dem Fehlen von Geißeln, in der eigentümlichen kriechenden Bewegungsweise stimmt der aus dem Meerschweinchen in der Kultur beobachtete Mikroorganismus mit der von WINOGRADSKY gelieferten Beschreibung seiner *Cytophaga*-Spezies aus Bodenkultur gut überein. Besonders die Bewegungsart erscheint mir so charakteristisch, daß sie die Zugehörigkeit zum Genus *Cytophaga* sehr wahrscheinlich macht. Seinem Vorkommen bei den Nagetieren gemäß möchte ich für den Keim den Namen *Cytophaga rodentium* n. sp. vorschlagen.

Da die Züchtung der beiden anderen, noch häufig vorhandenen Bakterienarten, der *Cellfalcicula* und der Spirochäte noch nicht gelungen war, wurde versucht, von möglichst natürlichen Substraten ausgehend, zuerst einmal *Cellfalcicula* die entsprechende Nährbodengrundlage zu bieten. Zu diesem Zweck wurden zuerst Abkochungen, später auch steril filtrierte Preßsäfte verwendet, zu deren Bereitung Gras, Futter-

rüben, Karotten, Salat, Spinat, Blumenkohlstrünke benutzt wurden. Die Preßsäfte wurden für sich allein aerob und anaerob, d. h. in dünner Schicht und bei Übersichtung mit sterilem Paraffinöl, und ebenso auch mit Zusatz von sterilem Zellulosepulver verwendet. Auch in diesen Substraten war kein Wachstum von *Cellfalcicula* zu erzielen. Die terrestrischen Arten dieses Bakteriums wurden von WINOGRADSKY mit der Kieselsäureregelmethode gezüchtet. Deshalb wurden in einer anderen Versuchsserie zuerst die von diesem Autor beschriebenen Originalnährböden verwendet, des Mißerfolges wegen aber auch noch weitere Abänderungen vorgenommen. WINOGRADSKY verwendete einmal Kieselsäuregelplatten, die durch Zugabe von HCl zu Wasserglas unter Zugabe von Zellulosepulver gewonnen werden, andererseits aber auch reine Kieselsäuregelplatten auf die Filtrierpapierscheiben aufgelegt wurden. Ich habe ebenfalls beide Methoden angewendet. Als Zellulosepulver benutzte ich die reine Zellosesubstanz 123 von Schleicher & Schüll, aber auch die Hydrozellulose, die durch Behandlung von reiner Sulfatzellulose mit Säure und darauffolgendem Zerreiben gewonnen worden war. Der Grundnährboden wurde auch weiterhin durch Zusatz von Phosphorsäure zur Wasserglaslösung gewonnen. Um weitere wachstumsfördernde Prinzipien einzuführen, wurden dem Silikatgrundnährboden abwechselnd allein und in Kombination Pepton, Hefeautolysat, Glukose, Dünndarminhalt von Meerschweinchen, Extrakte aus dem Inhalt des Blinddarms, Extrakte des Darmes selbst zugesetzt. Auch diese Versuche verliefen negativ.

Züchtungsversuche in halbstarren Nährmedien

Zu Reinzüchtungsversuchen der Spirochäten sollte eine andere Reihe von Züchtungsbedingungen dienen. Ich wollte in diesen Versuchen von der starken Beweglichkeit dieser Mikroorganismen auch in halbstarren Medien ausgehen; dieses wurde deshalb in U-Röhrchen gegeben, die Beimpfung im einen Schenkel vorgenommen und erwartet, daß die Spirochäten dank ihrer großen Beweglichkeit in den anderen Schenkel durchwandern würden und sich dort isolieren ließen. An halbstarren Medien wurden verwendet: Erstarrtes Glycerinserum, Pferdeserum halberstarrt nach NOGUCHI; natürliche Bouillon und synthetischer Nährboden mit den bereits genannten Zusätzen wurden durch zusätzliche Beigabe von Methylzellulose in einen halbstarren Zustand überführt. Es zeigte sich, daß die immer vorhandenen Sporenbildner in ihrer Beweglichkeit den Nährboden am raschesten durchwandern und so das mögliche Wachstum von anderen Keimen durch frühzeitige Veränderung des Nährbodens verhindern. Auch mit dieser Methode ließ sich nicht der gewünschte Erfolg erzielen.

Tierversuche

Interessante und aufschlußreiche Perspektiven ergeben sich auch aus der Gewohnheit aller daraufhin untersuchten Nagetiere mit Ausnahme der Schläfer den Weichkot zu fressen. HARDER (1949) beschrieb diese

Erscheinung der Tiere und setzt sie in Beziehung insbesondere zu der Kostform der Tiere. Er nennt den Weichkot Coecotrophe, um damit seine Herkunft aus dem Blinddarm zu kennzeichnen. Er beobachtete das Eingehen der Tiere, wenn man sie am Fressen des Weichkotes hindert. Dies schien mir der Ansatzpunkt für weitere aufschlußreiche Versuche zu sein. SCHEUNERT und ZIMMERMANN untersuchten die Coecotrophe auf ihren Vitamingehalt. Sie kamen zu dem Ergebnis, daß beim Meerschweinchen z. B. der Weichkot das doppelte an Nikotinsäure enthält wie der Normalkot, an Vitamin B sogar das 3,7fache. Man konnte also vermuten, daß dieser erhöhte Vitamingehalt mit der Eigentümlichkeit des Kotfressens in Beziehung stehen könne. Diese Vermutung wird noch weiterhin bestärkt, wenn man sich den Vitamingehalt der Winternahrung vergegenwärtigt, bei der die Tiere besonders leicht sterben, wenn man sie am Kotfressen hindert, was durch Anlegen eines Halskragens erreicht wird.

Hinderung der Coecotrophie

Zu diesen Untersuchungen setzte ich die Tiere auf Gitterdraht von 10 mm Maschenweite, durch den der Weichkot bei den im Versuch stehenden 500 g Tieren noch gut durchfällt¹. Die Tiere im Kontrollversuch zeigen bei diesen Haltebedingungen durchaus gesundes Aussehen, auch bei reiner Heufütterung unter Zugabe von Wasser und nehmen langsam an Gewicht zu. Auch die Kontrolltiere, deren Kragen so schmal gemacht wird, daß sie den austretenden Weichkot noch zu erreichen vermögen, zeigen gegenüber den Tieren ohne Kragen keinerlei Unterschied. Wird jedoch der Kragen so breit gemacht, daß es dem Tier nicht mehr möglich ist, den Weichkot zu erreichen, dann gehen diese bereits nach 4 Tagen unter dieser extrem einseitigen Kostform ein. Interessant ist dabei besonders, daß das Verenden der Tiere ganz plötzlich und unter nur kurzen Prodromalerscheinungen aus anscheinend völligem Wohlbefinden erfolgt. Die auffallendsten Erscheinungen des Prodromalstadiums sind an den Hinterbeinen beginnende Lähmungserscheinungen und eine Freßunlust, die allerdings auch stark auf die nervösen Muskelstörungen zurückzuführen sein wird. Die Erscheinungen steigern sich bis zum Opisthotonus, in dem dann das Tier verendet. Diese Krankheitszeichen haben große Ähnlichkeit mit den Avitaminoseschäden, die bei B₁-Mangel zu beobachten sind. Das würde auch mit den Angaben übereinstimmen, die SCHEUNERT und ZIMMERMANN über den Vitamingehalt der Coecotrophe machen.

¹ Alle im folgenden genannten Tierversuche wurden mit Gruppen von 4 Tieren durchgeführt.

Vitaminzusatzversuche

Um nun die angegebene Bedeutung des hohen Vitamin-B₁-Gehaltes zu überprüfen, erhielten die am Fressen des Weichkotes absolut gehinderten Kragentiere täglich das überaus hohe Quantum von 10 mg Aneurin, in Zuckerwasser gelöst, mit der Magensonde, was allerdings nach kurzem Gebrauch schon nicht mehr notwendig war, da die Tiere gierig die Aneurinlösung aufnahmen. Man hatte geradezu den Eindruck, daß sie instinktiv nach dem Vitamin verlangten. Gesunde und normal ernährte Tiere zeigen diese Gier nicht und wurden durch den Aneuringeruch auch gar nicht beeindruckt, der auf die mangelernährten Tiere besondere Reize ausübt.

Trotz der überaus hohen Vitaminzufütterung gehen die Tiere nach der gleichen Zeit wie die ohne Vitaminzufuhr ein. Damit ist der Beweis erbracht, daß nicht allein der Vitamin-B₁-Verlust, der durch Nichtfressen der Coecotrophe entsteht, an dem raschen Verenden der Tiere die Schuld trägt.

Das ist auch noch aus einem anderen Grunde unwahrscheinlich. Bei Grasfütterung halten die Tiere mit Kragen 18—21 Tage aus, bevor sie eingehen. Allein durch das Trocknen des Grases muß also eine derartige Entwertung der Nahrung eintreten, daß die starke Verkürzung der Lebensdauer ohne Weichkotfressen dadurch bedingt wird. Vitamin B₁ zeigt aber keine derartige Unbeständigkeit gegenüber Trocknen, daß damit der Unterschied in der Wirksamkeit zwischen Gras und Heu erklärbar wäre. Ebenso stimmt damit auch nicht die Hitzelabilität überein, die HARDER für den verantwortlichen Stoff in der Coecotrophe damit bewies, daß er diese erhitzte und zeigte, daß damit gefütterte Tiere ebenso rasch starben wie solche, denen keine Coecotrophe gereicht wurde. Nach neueren Untersuchungen von P. B. PEARSON und Mitarbeiter kommen darin neben dem hohen Gehalt an Vitamin B₁ jedoch auch erhebliche Mengen an Nikotinsäureamid, Riboflavin, Pantothen-säure und Vitamin B₁₂ vor. Von diesen 4 Vitaminsubstanzen ist Pantothen-säure als einzige hitzeunstabil. Das legte den Verdacht nahe, daß besonders der Verlust an diesem Vitamin eine entscheidende Rolle bei der Verhinderung des Weichkotfressens spielen könne.

Es wurden deshalb Tiere mit Kragen zu ihrer üblichen Heu- und Wasserfütterung mit einer täglichen Gabe von 1 mg Pantothen-säure versorgt, eine andere Gruppe erhielt zusätzlich 10 mg Aneurin neben der Pantothen-säuregabe. Die reine Pantothen-säuregabe ergab bereits für sich eine Lebensverlängerung auf 8 Tage, bis die Tiere doch starben. Sie magerten dabei stark ab, zeigten aber keine der vorher beschriebenen Prodromalerscheinungen. Sie zeigten vielmehr einen lethargischen Zustand, in dem sie zuletzt auch nicht mehr fraßen. Die Sektion ergab

weder an den Nebennieren noch an Magen und Duodenum Veränderungen, worauf noch später eingegangen werden wird. Bakterioskopisch ergibt sich ein sehr starkes Vorwiegen der Enterokokken, während die Sichelkeime nur noch spärlich vorhanden sind. Auch die Spirochäten sind in ihrer Zahl zurückgegangen. Cytophaga und Lactobacillus sind im wesentlichen unverändert.

Die zusätzliche Ernährung mit Aneurin neben Pantothensäuregabe ergibt ein wesentlich längeres Überleben als mit den Einzelsubstanzen selbst. Die Lebensdauer mit Kragen betrug 14 Tage. Die Sektion der Tiere zeigte kein anderes Bild als das der mit Pantothensäure ernährten. Es zeigt sich also, daß noch weitere Vitaminzusätze notwendig sind, um den physiologischen Anforderungen zu genügen.

Die Zugabe eines Präparates, das möglichst viele Vitamine enthält, wie es z. B. im Polyvitaminkonzentrat Dr. GRANDEL vorliegt, schafft wesentlich andere Verhältnisse. Die Tiere halten, obwohl sie am Weichkotfressen gehindert werden, 3 Wochen und länger aus, also auch länger als es bei den mit Grünfütter ernährten Tieren möglich ist. Damit ist bewiesen, daß die Krankheitserscheinungen, die auftreten, wenn man die Tiere am Weichkotfressen hindert, einzig Vitaminmangelerscheinungen sind. Sie werden also nicht etwa auch dadurch hervorgerufen, daß die Tiere durch mangelhafte Zelluloseausnützung in einen Zustand des Kalorienmangels versetzt werden. Die Bedeutung des Blinddarms beruht also sicherlich nicht nur darauf, daß er „Ort der Zelluloseverdauung“ (SCHEUNERT und ZIMMERMANN, S. 217) ist.

Proteinhaushalt

Zur Diskussion steht weiterhin die Frage, inwieweit die Coecotrophe mit ihrem angegebenen hohen Proteingehalt zu einem wesentlichen Teil am Aminosäurehaushalt der Nager beteiligt ist. Leider liegen Untersuchungen am Meerschweinchen dazu nicht vor. ROSE und SMITH führten Untersuchungen an Ratten durch. Nun bietet zwar die omnivore Ratte sowohl hinsichtlich ihrer Darmflora als auch der anatomischen Verhältnisse ihres Blinddarms und ebenso der andersartigen Zusammensetzung der üblichen Nahrung durchaus andere Verhältnisse, die sich nicht ohne weiteres auf die Meerschweinchen und ähnliche Nager übertragen lassen. Die Versuche wurden in der Weise ausgeführt, daß den Ratten durch Zugabe eines darmdesinfizierenden, nicht resorbierbaren Sulfonamides die Darmflora vernichtet wurde. Man hätte also bei einer Bedeutung der Flora für die Aminosäuregewinnung erwarten müssen, daß bei geeigneter Fütterung die Tiere gegenüber den Kontrollen in ein Eiweißdefizit geraten. Es zeigte sich aber kein signifikanter Unterschied. Auch die eigenen Versuche an den Meerschweinchen mit Kragen, die

mit Polyvitaminkonzentrat gefüttert wurden, zeigen, daß die Tiere nicht in ein Proteindefizit kommen, selbst nicht unter den extremsten Fütterungsbedingungen.

Zur Frage des Unterschiedes im Aminosäuregehalt versuchte ich die chromatographische Bestimmung der im Dünndarm-, Blinddarm- und Dickdarminhalt vorliegenden Aminosäuren. Leider wird durch die reichlich vorhandenen Gallenfarbstoffe, die das Chromatogramm völlig verwischen, diese Untersuchung denkbar erschwert. Diese Farbstoffe haben die Eigenschaft, durch ihre hohe Konzentration, in der sie im Darminhalt vorliegen, mit der Front des Lösungsmittels unter äußerst stark ausgeprägter Schwanzbildung zu wandern und so das ganze Chromatogramm derart stark zu verfärben, daß nur sehr reichlich vorhandene Aminosäuren daneben noch erkennbar werden. Deshalb konnten praktisch nur Asparaginsäure, Lysin, Alanin und Leucin als solche identifiziert werden. Signifikante Unterschiede ergaben sich aber auch bei diesen in den drei Darminhaltproben nicht, nur bei dem aus dem Dickdarm waren sie nur noch in geringer Menge nachweisbar und im Enddarm fast völlig verschwunden. Auch im zweidimensionalen Chromatogramm ließen sich die erwähnten Schwierigkeiten nicht überwinden. Versuche durch Elution den Gallenfarbstoff vor dem Chromatographieren zu entfernen und so zu brauchbaren Ergebnissen zu gelangen, schlugen ebenfalls fehl. Zudem wären derartige Versuche auch nur noch bis zu einem gewissen Grade verwendbar, selbst wenn sie gelungen wären, da immer damit gerechnet werden muß, daß auch Aminosäuren in dem Lösungsmittel, das den Gallenfarbstoff ausziehen soll, miteluiert werden. Aus diesem Grunde nahm ich auch Abstand von der Entfärbung des Extraktes durch Tierkohle.

Bildung der Coecotrophe

Die Ausstoßung des Blinddarminhaltes und Umformung zur Coecotrophe im Dickdarm muß offenbar periodisch erfolgen. Wenn HARDER aber in Zusammenhang mit der Bildung der Coecotrophe die Ansicht äußert, daß der Blinddarm sich in gewissen Abständen mehr oder minder vollkommen entleeren müsse, weil nur so die Coecotrophe aus dem Blinddarm ins Colon gelangen könne, so muß ich dies zumindestens für das Meerschweinchen sehr in Frage stellen. Bei 600 während $2\frac{1}{2}$ Jahren beobachteten Tieren konnte ich auch nicht einen wenigstens einigermaßen leeren Blinddarm feststellen und von etwa 5000 vorher untersuchten Versuchstieren ist mir kein Fall dieser Art erinnerlich, obwohl diese bei der stets notwendigen genauen Untersuchung des Situs von TB-Tieren, um die es sich handelte, aufgefallen wäre. Ich habe eher den Eindruck, als ob nur ein kleiner Teil des Inhaltes entleert würde, um dann gleich wieder durch Dünndarminhalt aufgefüllt zu werden.

Das ist mir auch aus verschiedenen anderen Gründen wahrscheinlicher. In Originalpräparaten des Blinddarmausstriches finden sich besonders bei *Cellfalcicula* viel weniger Formen, die auf eine eben stattgehabte oder bevorstehende Teilung schließen lassen als das in Kulturen anderer Bakterien der Fall ist. Ich möchte daher für diese Form eine

relativ geringere Teilungsgeschwindigkeit und daher einen wesentlich langsameren Zuwachs annehmen. Das würde aber bedeuten, daß die Blinddarmflora sich nicht so rasch, zumindestens für diesen Keim, regenerieren kann, wie dies etwa bei der Coliflora des Menschen zu sein scheint.

Es zeigen auch die Versuche beim Streptomycin-sterilisierten Tier, daß die Restitution der symbiontischen Flora wesentlich langsamer erfolgt als sich eingedrungene Colibakterien in dem an und für sich für sie doch fremden Milieu vermehren, da diese Tiere ja nach dem Absetzen der Streptomycingaben an „Colienteritis“ einzugehen pflegen.

Endlich weisen auch noch andere Versuche, von denen HARDER berichtet, in dieselbe Richtung. Danach haben Untersuchungen (EDEN), bei denen dem Futter der Kaninchen Kupfer beigemischt wurde, ergeben, daß bei Gestattung der Coecotrophie dasselbe 5 Wochen im Kot nachweisbar war, da der Kreislauf eben immer wieder von neuem begann. Verhinderte man dagegen die Aufnahme der Coecotrophe, so war das Kupfer 4 Tage im Kot der Tiere zu finden. Das kann aber nur auf das lange Verweilen des Kupfers im Blinddarm zurückgeführt werden, denn die übliche Darmpassage ist nicht höher als mit 12—24 Std anzunehmen. Wenn aber der Blinddarm sich nahezu restlos entleeren würde, müßte es ja auch wesentlich rascher zu einem Wiederverschwinden des Kupfers kommen.

Die Durchmischung des Blinddarminhaltes ist fortwährend sehr kräftig. Jedenfalls lassen sich beim frisch getöteten Tier starke Durchmischungsbewegungen beobachten und auch weder makroskopisch noch mikroskopisch im Darminhalt deutliche Unterschiede zwischen Anfang und Ende des Blinddarms erkennen. Dementsprechend erscheint es mir auch nicht möglich, einen besonderen Teil des Blinddarms für die Bildung der Coecotrophe verantwortlich zu machen. Die Tuscheeinspritzungen HARDERS beweisen ja auf jeden Fall nur, daß die Coecotrophe tatsächlich im Blinddarm gebildet wird, woran kein Zweifel ist.

Die Frage, was nun das Tier zur Aufnahme der Coecotrophe bewegt, ist schwer zu klären. Die Meinung, daß es ein besonderer Duftstoff sei (HARDER), der zur Aufnahme anreizt, scheint mir deshalb als nicht beweiskräftig, da ja die Tiere bei reicher Grünfütterung die Coecotrophe unbeachtet liegen lassen. Die Instinkthandlung der Aufnahme der Coecotrophe muß also in diesem Falle geradezu von einem chemischen Sinn für das Vorhandensein der notwendigen Vitaminergänzung bei Mangelfütterung durch den Gehalt des Weichkotes geleitet werden, was wohl auch sinnesphysiologisch sehr interessant ist.

Besiedelung des Neugeborenendarmes

Interessant ist weiterhin die Frage, ob beim neugeborenen Meerschweinchen eine besondere Flora vorhanden ist. Man hätte vermuten

können, daß ähnlich wie beim Menschen während der Säugeperiode eine dieser besonderen Ernährungsweise angepaßte, spezifische Blinddarmbesiedelung vorliegen würde, etwa derart, daß auch hier typische *bifidus*-ähnliche Bakterien vorkämen. Es wurden deshalb Meerschweinchen aus dem üblichen Lebensmilieu in kurzen Abständen nach der Geburt auf die bakterielle Besiedlung des Blinddarms hin untersucht. Dabei zeigte sich, daß bis 12 Std nach der Geburt der Blinddarm als kleines Gebilde ohne jeglichen Inhalt vorliegt. 24 Std nach der Geburt ließen sich nur unorganisierter strukturloser Inhalt feststellen, aber noch keine Bakterien oder Nahrungsreste. Nach 36 Std zeigte sich bereits eine geringe Besiedlung mit der von den erwachsenen Tieren her gewohnten Flora, die sich in keiner Weise nach einer besonderen Milchflora hin differenziert zeigte. Der Blinddarm war etwa auf das fünffache seiner ursprünglichen Größe angewachsen.

Wenn man die Frage nach der Herkunft stellt, so ist unter Normalverhältnissen diese leicht zu beantworten, da man beobachten kann, daß bereits in diesem Alter die Neugeborenen den Weichkot der Mutter fressen. Es liegen nun bei den Meerschweinchen allerdings besondere Verhältnisse vor, da die neugeborenen Tiere schon kurz nach der Geburt selbstständig sind und nach wenigen Stunden schon neben der Milchnahrung das Futter erwachsener Tiere annehmen. Untersuchungen an Nagetieren mit der gleichen Zusammensetzung der Flora, die aber nicht derart weitentwickelte Jungen zur Welt bringen, wären interessant. Bei diesen Tieren, die wesentlich länger durch reines Säugen ernährt werden und erst nach dem Sehendwerden auch ein anderes Futter annehmen, wäre eher mit einer besonderen Milchflora zu rechnen.

Im Zusammenhang mit der Besiedlung des Blinddarmes der Neugeborenen mußte trotz des beobachteten Kotfressens derselben beim Muttertier doch die Frage interessieren, ob hier etwa ein ähnlicher Vorgang zusätzlich noch besteht, wie er vom Menschen her bekannt ist. Die Übertragung des für die erste symbiontische Milchflora wichtigen *Bacterium bifidum* findet bekanntlich beim Menschen mit einer derartigen Sicherheit statt, daß die mütterliche Vagina einem bei den Insekten vorkommenden Beschmierorgan gleichgerachtet wurde. Das *Bacterium bifidum* des Säuglingsdarmes und der DÖDERLEINsche Vaginalbacillus scheinen ja tatsächlich nur Standortvarietäten ein- und desselben Bacillus zu sein. Daß die Aufnahme der Keime beim Durchtritt durch die Geburtswege schon mit dem Munde erfolgt, ist durch eine Beobachtung von KLEINSCHMIDT gesichert, der das *Bacterium bifidum* bei einem Säugling feststellen konnte, der an Atresia ani litt, der also zwangsläufig die Bakterien nur durch den Mund aufgenommen haben konnte. Ist ein derartiger Vorgang auch beim Meerschweinchen anzunehmen? Zur Klärung dieser Frage wurden nun Vaginalabstriche von Meerschweinchen kurz ante

partum vorgenommen. Die Vaginalflora ist vorwiegend grampositiv. Die Mehrzahl der Bakterien sind grampositive Lactobazillen und daneben mäßig viel Kokken. An gramnegativen Keimen ist ein Stäbchen zu beobachten, das morphologisch dem aus dem Blinddarm beschriebenen gleicht, ebenso eine Spirochäte, wenn auch spärlich vorhanden. Nur äußerst spärlich finden sich Keime, die man als Abortivformen des Sichelkeimes ansprechen könnte. Sie sind kleiner und meist mehr von Wetzsteinform und wären kaum als mit den Sichelkeimen übereinstimmend anzusprechen, wenn sich nicht, das bei allen anderen Bakterien nicht zu beobachtende chromatophile Körnchen auch bei den Keimen aus diesem Standort finden würde. Daß diese morphologischen Unterschiede zu den Keimen im Blinddarm entstehen, erscheint bei den völlig andersartigen Ernährungsbedingungen durchaus begreiflich. Danach scheint mir die Vermutung, daß es sich bei beiden Standorten um die gleiche symbiontische Flora handelt, als zumindest nicht unwahrscheinlich. Ein exakter Beweis dazu ist naturgemäß nur sehr schwer zu erbringen. Um wenigstens einen weiteren gewissen Wahrscheinlichkeitsbeweis hinzuzufügen, trennte ich eben neugeborene Meerschweinchen, bei denen der Geburtsvorgang beobachtet wurde und die sicher noch nicht von dem Muttertier Weichkot gefressen hatten, sofort von diesem und ernährte sie künstlich mit Kuhmilch. Die eine Gruppe von neugeborenen Meerschweinchen wurde nunmehr mit der Flasche ernährt und den Tieren gleichzeitig Gelegenheit gegeben Heu zu fressen. Sie gewöhnten sich rasch an diese Ernährungsweise, zeigten allerdings gegenüber den bei ihrer Mutter belassenen Geschwistern der gleichen Würfe etwas langsames Wachstum. (Nach 14 Tagen hatten die bei der Mutter belassenen Tiere etwa 150 g, die mit der Flasche aufgezogenen 110 g erreicht.) Es zeigte sich, daß die Tiere die gleiche Flora aufwiesen wie die bei der Mutter verbliebenen, normalernährten Tiere. Die Jungtiere hatten also ihren Bakterienbestand auch ohne das übliche Kotfressen bei dem Muttertier erworben. Sehr ausgeprägt war das Bestreben bei den Geschwistern, jedes erscheinende Kotbällchen sofort aufzufressen, so daß überhaupt kein Kotbällchen liegenblieb. Da die Tiere räumlich völlig getrennt von anderen erwachsenen Meerschweinchen gehalten wurden und eine von dorthier mögliche Übertragung von Keimen bei der Fütterung mit der Flasche peinlichst vermieden wurde (vor jedem Füttern sorgfältiges Sterilisieren von Glasflasche und Gummisauger durch Auskochen), bleibt nur die Wahl, daß die Tiere die Bakterien bereits bei der Geburt oder aber über das verabreichte Heu aufgenommen haben müssen.

Eine andere Gruppe von Neugeborenen wurde ebenfalls sofort von ihren Müttern getrennt und in neuen, noch nicht von anderen Tieren bewohnten Käfigen nur mit Milch ernährt, ohne jede Gelegenheit

zellulosehaltige Nahrung aufzunehmen. Es wurden dieselben Kautelen beachtet, wie bei der vorher beschriebenen Gruppe. Die Milch wurde auch hier ungekocht und nur bis auf Körpertemperatur angewärmt, jeweils in Abständen von 2 Std, mit einer nächtlichen Pause von 4 Std verabreicht, wobei die Tiere stets 2—3 cm³ tranken, später auch mehr.

Nach 8 Tagen noch war nichts von einer normalen symbiontischen Flora zu entdecken. Vielmehr bestand die Flora einzig aus grampositiven Kokken der Enterokokkengruppe, gramnegativen Stäbchen, die den zelluloseabbauenden Stäbchen der erwachsenen Tiere vollkommen glichen und daneben Kurzstäbchen, die sich kulturell als Colibakterien erwiesen. Das reichliche Vorhandensein der Coliflora war nach den Milchfütterungsversuchen an erwachsenen Tieren durchaus zu erwarten, man hätte denn annehmen müssen, daß bei den Jungtieren eine völlige Organresistenz gegen Coli vorhanden ist. Die Tiere wurden denn auch nach 8 Tagen sehr hinfällig und gingen an „Colienteritis“ ein. Wenn man derartige schon ziemlich hinfällige Tiere jedoch durch Streptomycinzugabe zur Milchfütterung vor dem Überhandnehmen der Coliflora schützt, lassen sie sich beliebig lange am Leben erhalten. Beim Absetzen der Streptomycinzufütterung kommt es allerdings immer wieder zum Aufflackern der „Colienteritis“.

Der Versuch zeigt, daß beim Fehlen des natürlichen Substrates, wie es durch die Heufütterung schon zur Genüge gegeben wird, die Symbiontenflora nicht zur Entwicklung kommt.

Keimfreie Aufzucht

Zur Klärung der Frage, ob den obligaten Darmbakterien eine symbiontische Bedeutung zukommt, sind keimfreie Aufzuchtversuche, wie sie seit NUTTAL und THIERFELDER schon wiederholt unternommen wurden, sehr aufschlußreich. Allerdings waren diese Aufzuchtversuche bis in die neueste Zeit stets von Mißerfolgen begleitet insofern, als es im Laufe der Experimente immer wieder zur Infektion kam. Es ist eben die Frage der sterilen Nahrungszufuhr nur sehr schwierig zu lösen, und mit dieser wurden früher oder später dann die Keime eingeschleppt, die die Weiterführung eines bakterienfreien Versuches vereitelten. Das Ansetzen der Versuche bietet an und für sich keine unüberwindlichen Schwierigkeiten. Die Gewinnung eines keimfreien Neugeborenen ist durch Kaiserschnitt ja ohne weiteres möglich. Schwieriger ist schon die daran sich anschließende Aufzucht mit Milch, deren Gewinnung bei kleineren Versuchstieren schon erhebliche Mühe bereitet. Noch schwieriger ist es diese steril zu bekommen ohne wichtige Inhaltsstoffe zu denaturieren. Neben anderen Tieren, wie Ziegen (KÜSTER 1912) und Hunden (GLIMSTEDT 1946), wurden vor allem Meerschweinchen zu solchen Versuchen verwendet. NUTTAL und THIERFELDER berichten schon

bei ihren Experimenten davon, daß die Meerschweinchen ein sehr stark aufgeblähtes Coecum besitzen, das mit einer dünnen halbflüssigen Masse angefüllt war. Bei Experimenten von COHENDER und WELLMANN (1914 und 1922), die Meerschweinchen 29 Tage lang steril hielten, konnten interessanterweise Lähmungserscheinungen der hinteren Gliedmaßen beobachtet werden. Mittlerweile war die Vitaminforschung erheblich weitergekommen; deshalb trug man bei weiteren Versuchen den neuen Erkenntnissen Rechnung. Durch die Notwendigkeit des Sterilisierens aller Nahrung, die den Tieren zugeführt werden muß, mußten natürlich die darin enthaltenen Vitamine sehr leiden. Deshalb wurden entsprechend stark vitaminhaltige Substanzen, wie Hefeextrakte, Leberextrakte steril filtrierte Fruchtsäfte der Nahrung zur Vervollständigung beigelegt. Damit gelang es dann COHENDER u. WELLMANN die zuerst beobachteten Lähmungserscheinungen zu vermeiden.

GLIMSTEDT (1932—1937) führte Versuche mit Meerschweinchen in keimfreier Zucht bis zu 60 Tagen durch. Es wurde mit sehr ausgiebigen Vitaminzusätzen gearbeitet. Zwischen den keimfrei und den in normaler Umgebung aufgezogenen Tieren, die dieselbe und auch gleich behandelte Diät erhielten, ergaben sich keine Unterschiede. Auch bei diesen Versuchen zeigten die keimfrei lebenden Tiere bei ihrer Obduktion ein stark geblähtes Coecum.

Die vollkommensten Versuche wurden von REYNIERS und seinen Mitarbeitern in neuester Zeit ausgeführt. Es wurden Affen, Hunde, Katzen, Ratten, Mäuse, Kaninchen und auch Meerschweinchen steril aufgezogen. Dabei wurde mit einem sehr großen Aufwand an Material und Personal gearbeitet. Ein vollkommenes System, das aus 16 Zuchteinheiten besteht — es ist dies die kleinste Anzahl, die sich für die Arbeit als zweckmäßig erwies — wozu noch eine besondere Operationseinheit, ein Übertragungsgerät, zehn Vorratseinheiten und ein Untersuchungsgerät kommen, sowie die nötigen Heizungs-, Belüftungs- und Kontrollvorrichtungen, kostet über 100 000 Dollar. An Personal werden 21 Personen benötigt. Dementsprechend sind auch die Erfolge, die hiermit erzielt wurden, die bisher überhaupt besten auf diesem Gebiet. So konnten die Untersucher die Meerschweinchen bis zu einem Alter von 8 Monaten bringen. Das Wachstum war jedoch schlecht, obwohl die kompliziert zusammengesetzte Diät mit reichlichem Reinvitamin und Naturextrakten vervollständigt war. Die meisten Tiere starben schon bei einem Alter von 60 Tagen in einer Art von Hungerzustand. Auch hier zeigte sich wieder, daß der Blinddarm der Tiere enorm erweitert und mit einer halb flüssigen granulierten Masse angefüllt war. Interessant war auch die Beobachtung, daß die keimfrei aufgezogenen Tiere in allen Fällen äußerst gierig fraßen. Man hatte also den Eindruck, als ob sie trotz reichlichen Fressens an einem unstillbaren Hunger leiden würden.

Leider ist in keinem der Experimente eine Beschreibung davon zu finden, ob auch unter den Lebensbedingungen der sterilen Haltung die Tiere den Weichkot fressen.

Wenn man die Ergebnisse der Experimente zur Diskussion stellt, fällt auf, daß diese Tiere trotz reichlicher Versorgung mit allen bekannten Vitaminen dennoch über ein gewisses Alter nicht am Leben erhalten werden konnten. Dies läßt zwei Vermutungen zu: Entweder werden in der Nahrung durch das Sterilisieren doch noch unbekannte Stoffe zerstört, die trotz der starken Vitamingaben nicht ersetzt wurden — was allerdings bei der reichlichen Versorgung sowohl mit bekannten Vitaminen als auch mit rohem Hefe- und Leberextrakt, die beide ja auch noch unbekannte Stoffe ersetzen müßten, bei REYNIERs Versuchen wundernehmen muß. Oder es werden doch von den Darmbakterien zusätzliche Faktoren geliefert. Eine weitere Möglichkeit besteht darin, daß mit dem Futter gelieferte Vitamine von den Tieren ohne Mithilfe der bakteriellen Symbionten gar nicht entsprechend ausgenutzt werden können (Coenzyme oder Vitaminumbau, bzw. Aktivierung).

Auffallend ist, daß die omnivore Ratte längere Zeit am Leben erhalten werden kann als Meerschweinchen. Bei den Ratten gelang es sogar, unter den sterilen Verhältnissen Würfe zu erzielen, also eine zweite sterile Generation aufzuziehen (REYNIERs, TREXLER u. ERVIN).

Wenn auch diese Experimente keine sicheren Hinweise dafür liefern, daß der Hauptzweck der Symbionten in der Vitaminversorgung liegt, so zeigen sie andererseits auf jeden Fall, daß die so häufig angeführte Bedeutung für die Zelluloseverdauung, die ja unter diesen Bedingungen entfällt, es sicher auch nicht ist. Jedenfalls genügt die Ausnützung der Nahrung auch ohne den bakteriellen Zelluloseabbau, um den Kalorienbedarf zu decken.

Leider wurden die beschriebenen Versuche samt und sonders von anatomisch interessierten Forschern durchgeführt und dementsprechend die Versuchsanordnung in dieser Richtung eingestellt. Die hier zur Diskussion stehenden Fragen wurden deshalb nicht in der wünschenswerten Form bearbeitet. Den Tieren wurde jeweils ein Überangebot an Vitaminen zur Verfügung gestellt, um ein möglichst optimales Wachstum, auch unter diesen unnatürlichen Bedingungen, zu erzielen. Es ging ja bei den Versuchen nur darum, festzustellen, welche Gewebe beim Fehlen der bakteriellen Einwirkung nicht oder nur schwach entwickelt würden.

Wenn aber derartige Experimente für die hier zur Diskussion stehenden Fragen aufschlußreich sein sollen, dann hat nur eine Ernährung mit einer Diät Interesse, deren Vitamingehalt genau bekannt und in bezug auf das Fehlen eines Vitamins genau regelbar ist. Erst dann ließe sich gegenüber einer Kontrollgruppe bakterientragender Tiere, die die gleiche Diät erhalten, die wahre Vitaminproduktion dieser Bakterien ermitteln.

Noch interessanter würden natürlich diese Experimente, wenn es gelänge, die steril aufgezogenen Tiere mit einer rein gezüchteten Symbiontenart zu infizieren und dann das Verhalten zu studieren. Wie bereits schon einmal erwähnt, sind solche Experimente aber viel zu kostspielig als daß man hier an ihre Durchführung denken könnte, so interessant und aufschlußreich sie auch wären. Es bleibt deshalb kein anderer Weg übrig, als zu versuchen, auch mit unsterilen Methoden gewisse Einblicke in das intestinale Geschehen zu gewinnen. Dazu hat sich mit den neuen chemotherapeutischen Mitteln der Sulfonamid- und Antibiotikareihe den experimentellen Untersuchungsmethoden ein großes Feld aufgeschlossen.

Antibiotikaversuche

Seit langem fiel die hochgradige Empfindlichkeit der Meerschweinchen gegen Penicillin auf, eine Empfindlichkeit, die sie aus den übrigen meist verwendeten Versuchstieren Maus und Ratte völlig heraushebt. Sie wurde erstmals von KILLIAN u. HERRELL erwähnt, ohne daß sie nähere Ausführungen über die Ursachen machten. Sie sprachen lediglich die Vermutung aus, daß die normale Flora des Meerschweinchens grampositiv sei und diese wegen der besonders hohen Empfindlichkeit der grampositiven Bakterien gegen Penicillin besonders stark geschädigt werde. Sie führten auch Versuche aus, durch Vitamin-C-Gaben die Schädigung auszuschalten, was aber zu keinem Erfolg führte. MIESCHER u. BÖHM betonen vor allem die geringen Veränderungen, die sich bei der Sektion ergaben und kommen auf Grund des Befundes von hyperämischen Nebennieren zu der Annahme, daß die Todesursache die gestörte Funktion der Nebennieren sei. Sie halten die toxische Penicillinwirkung in erster Linie für eine Gefäßwirkung und glauben, daß es sich gar nicht um eine direkte toxische Penicillinwirkung, sondern um eine sekundäre Auslösung der Produktion von toxischen Stoffen unter dem Penicillineinfluß handeln müsse. Nur am Rande wird von diesen Autoren die starke Blähung des Darmtraktes konstatiert. Erstmals auf den Darmbefund gehen TONUTTI u. MATZNER, TONUTTI, u. KOCH und Mitarbeiter näher ein. Es wird besonders auf die Latenzzeit hingewiesen, die bis zum Tode des Tieres nach der Injektion notwendig ist, und die sich auch durch größte Dosen nicht abkürzen läßt. Dies spricht allein schon gegen eine toxische Wirkung. Die Nebennierenreaktion dagegen wird von ihnen im Sinne einer SELJESchen Alarmreaktion aufgefaßt. Sie erkennen den Verdauungstrakt als primären Ort der Schädigung auf Grund der histologischen Veränderungen der Darmschleimhaut wie Blutumlaufstörungen, Exsudation, Durchtritt von Erythrocyten, Abhebung und Nekrose des Zottenepithels und Zottenstromas.

Damit ist das Augenmerk auf das Auftreten einer Enteritis gerichtet. E. RUSCHMANN geht dann auf diese Enteritis näher ein. Sie schreibt:

„Der Dünndarm war mit gelblicher, von Gasblasen durchsetzter Flüssigkeit gefüllt, ebenso zeigte auch der Dickdarm breiig flüssigen Inhalt.“ Merkwürdigerweise wird der doch bei den Meerschweinchen so stark auffällige Blinddarm mit keiner Silbe erwähnt. (Ob dieser wohl für einen Teil des Dickdarmes gehalten wurde?)

Bei der bakteriologischen Untersuchung ergab sich ein reiches Wachstum sowohl lactosespaltender als auch lactosenegativer Coli-Kolonien, *Aerobacter aerogenes*, *Bacterium proteus*, grampositive Stäbchen und grampositive Kokken der Enterokokkengruppe. Auch im Dünndarminhalt wurde *Bacterium coli* nachgewiesen, außerdem auch häufig im Mageninhalt.

Bei den eigenen Untersuchungen ergab sich zwar das gleiche kulturelle Bild mit Vorherrschen der Colibakterien, im mikroskopischen Präparat jedoch zeigt sich, daß durchaus grampositive Kokken, die ihrem Aussehen nach als Enterokokken anzusprechen sind, und die sich auch kulturell nachweisen lassen, vorherrschen, daneben die gramnegativen Kurzstäbchen der Coligruppe. Völlig verschwunden aber sind die charakteristischen Sichelkeime der *Cellfalcicula*-Gruppe und auch die Spirochäten. Geblieben sind jedoch die gramnegativen Stäbchen der *Cytophaga*-Gruppe. Dieses Bild ergibt sich, ganz gleichgültig auf welchem Wege man das Penicillin dem Tier zuführt, ob durch Injektion oder durch Magensondenfütterung. Es zeigt sich also, daß es sich dabei um eine echte Penicillinschädigung der normalen Darmflora handelt. Mit dieser fällt der eigene antibiotische Schutzwall gegen Fremdkeime weg, die penicillinunempfindlichen Colibakterien gewinnen die Oberhand, und führen letzten Endes zum Tode. Dasselbe Erscheinungsbild läßt sich im übrigen auch durch massive Fütterung der Meerschweinchen mit Colibakterienkulturen erreichen, besonders bei gleichzeitiger zusätzlicher Diätänderung, wie reichlicher Zuckerzufuhr oder durch andere exogene Schädigungen. Das klinische Bild der Penicillinschädigung bietet im Endstadium relativ wenige Symptome: Gesträubtes Fell, Freßunlust, frühzeitiges Absinken der Körpertemperatur. Die Obduktion ergibt eine relativ geringe entzündliche Veränderung des Darmes. Am auffälligsten sind Blutungen in den Nebennieren und vereinzelte blutig belegte Ulcerationen der Magen- und Duodenalschleimhaut.

Auf diese Verhältnisse gingen auch ROLLE u. MAYER ein, die ebenfalls zu der Schlußfolgerung kommen, daß durch das Penicillin die symbiontische Darmflora des Meerschweinchens zerstört werde und dadurch die von diesen hervorgerufene Antibiose vernichtet wird, was zum nachfolgenden Wuchern der Colibakterien führt. Sie haben vereinzelt Meerschweinchen beobachtet, die von vorneherein schon eine gewisse Coliflora im Darm beherbergen. Diese Coliflora vernichtet durch ihre Penicillinasewirkung das in den Darm ausgeschiedene Penicillin,

wodurch es nicht zu einem Absterben der Symbiontenflora kommt. Diese Tiere hätten deshalb die Versuche überlebt. Ich selbst konnte derartige Tiere nicht beobachten. Ob es sich dabei um Fütterungseigentümlichkeiten handelt oder ob die „Coli bzw. die coliähnlichen Bakterien“ vielleicht zu anderen nahe verwandten gramnegativen Gruppen gehören, ist nicht zu beurteilen. Penicillinasebildner sind schließlich auch in der Gruppe der coliähnlichen Bakterien nicht selten. Auffallen muß, daß die wenigen auch von ROLLE u. MAYER nur vereinzelt nachgewiesenen Colikeime schon eine derart kräftige Penicillinaseproduktion aufweisen sollen, daß diese genügt, das in den Darm abgeschiedene Penicillin zu zerstören. Anders liegt allerdings der Fall, wenn in den weiteren Versuchen von ROLLE und MAYER „vor, während, oder kurz nach der Penicillingabe Coli- bzw. coliähnliche Kulturen (Parakoli) peroral verabreicht werden.“ Dann ist die Penicillinase, die mit der Kultur zugeführt wird, durchaus imstande, die Penicillinwirkung auf die Symbionten völlig aufzuheben, wodurch wiederum diese instand gesetzt werden, das Angehen der Coliinfektion zu verhindern. Daß diese Tiere also nicht starben, nimmt nicht wunder und bestätigt somit die Bedeutung der Symbionten als Verhüter einer Fremdinfektion. ROLLE u. MAYER (1953) berichten auch, daß bei allen anderen Tierarten, die *Bacterium coli* als Symbionten im Darmkanal besitzen, Penicillingabe zu einer Unterdrückung grampositiver Mikroorganismen führen soll „und daß damit der ungestörten Entwicklung der Colikeime der Weg geebnet wird“. Bei einer normalen symbiontischen Coliflora im Darm ist mit Sicherheit soviel Penicillinase vorhanden, daß von einer Penicillinwirkung auf die eventuell sonst noch vorhandenen grampositiven Keime nicht die Rede sein kann.

Weiterhin wurde von mir Aureomycin zu derartigen Versuchen angewandt, wobei sich ergab, daß dieses Antibiotikum ebenfalls zu einer Schädigung der symbiontischen Flora führt und deshalb, wenn auch später als bei Penicillin, zur Colienteritis und damit zum Tod des Tieres führt. Die Ausstriche des Blinddarminhaltes ergeben im mikroskopischen Präparat ein völliges Verschwinden der symbiontischen *Cellfalcicula* und ein Vorwiegen von gramnegativen Stäbchen. Die kulturellen Untersuchungen liefern ein reichliches Wachstum von *Bacterium coli* und *Aerobacter aerogenes*.

Im Gegensatz dazu führte die Verabreichung von Erythromycin zu keiner Schädigung der spezifischen Darmflora, obwohl dieses Medikament seiner hohen Wirksamkeit gegenüber grampositiven Staphylokokken dazu führen müßte, wenn, wie RUSCHMANN vermutet, die obligate Darmflora des Meerschweinchens grampositiv wäre. Die Ausstrichpräparate von getöteten Tieren ergaben nur ein geringfügiges Zurückgehen aller

Bakterien wiederum nach einer Gabe von 10 mg pro 500 g Meerschweinchen mit Schlundsonde über 5 Tage hinweg.

Als noch besser verträglich erwies sich bei gleicher Fütterungsart unter gleicher Dosierung Neomycin, das im mikroskopischen Präparat überhaupt keine Beeinflussung der von mir als symbiontisch angesehenen Bakterien ergab und sogar darüber hinaus ein Zurückgehen der sonst noch vorhandenen, wohl saprophytischen grampositiven und gramnegativen Keime brachte. Dementsprechend vertragen die Tiere die Fütterung auch, ohne irgendwelche Krankheitserscheinungen aufzuweisen.

Chloromycetin hätte seiner sonst bekannten starken Wirkung gegen gramnegative Bakterien, insbesondere der Coli-Salmonella-Gruppe kein Auftreten einer „Colienteritis“ erwarten lassen, doch führt es offenbar gleichzeitig auch zu einer Schädigung der spezifischen Flora und dann treten ähnliche Verhältnisse auf, wie ich sie bei Aureomycin schilderte, die Einwanderung von Colibakterien erfolgt rascher als der Wiederaufbau einer genügend kräftigen eigenständigen Blinddarmflora.

Aus diesen Fütterungsversuchen mit Antibiotica ergibt sich demnach eine weitere Funktion der symbiontischen Flora, nämlich der eines Schutzes gegen Fremdinfektion.

Immer dann, wenn eine von außen einsetzende Schädigung die normale Darmflora an dieser ihrer wichtigen Funktion hindert, kommt es zu einer Ausbreitung der ubiquitären und für das Meerschweinchen hochpathogenen Colibakterien, was meist zum Eingehen des Tieres führt.

Diskussion der Ergebnisse

Überblickt man die angeführten Versuche und Beobachtungen in ihrer Gesamtheit, dann lassen sich daraus verschiedene Folgerungen ableiten. Am auffälligsten ist zunächst die erstaunliche Übereinstimmung, die sich bei nahe verwandten Arten aus der gleichen Familie der Nagetiere ergibt. Wie die Untersuchungen zeigen, ist es aber durchaus auch möglich, daß sich Parallelen der Flora bei Arten finden, die im System relativ weit voneinander entfernten Familien angehören. Ein Beispiel für diesen letzteren Fall zeigt *Cavia porcellus*, aus der Überfamilie Cavioidae, die doch eine weitgehend ähnliche Flora wie die Angehörigen der Unterfamilie Microtinae besitzt, obwohl sie in dem herkömmlichen System durch viele andere Überfamilien voneinander getrennt sind. Das mag daran liegen, daß kein künstliches System sowohl allen morphologischen als auch physiologischen Bedingungen gerecht werden kann. Welchem der beiden Ordnungsprinzipien das Primat gebührt, ist schwierig zu entscheiden. Jedenfalls erhebt sich in diesem Falle die Frage, ob die obligate Blinddarmflora die Verwandtschaftsbeziehungen nicht deutlicher aufzeigt als manches andere

Merkmal. Sie ist ja stets so wohldefiniert, daß man aus dem Ausstrichpräparat geradezu auf die verwandtschaftlichen Beziehungen rückschließen kann. Freilich lassen sich aus den wenigen bisher zur Verfügung stehenden Arten keine weitgehenden Folgerungen ziehen. Es wäre zu wünschen, eine möglichst große Anzahl von Arten für weitere Untersuchungen in dieser Richtung zu erhalten, um auch diesen Fragenkomplex einer weiteren Klärung zuzuführen.

Bei den bis jetzt untersuchten Nagetieren und Lagomorphen ergibt sich mit großer Deutlichkeit auch aus dieser Perspektive die Notwendigkeit der Trennung dieser beiden früher vereinigten Ordnungen. Die Lagomorphen trennen sich mit ihrer Sporenbildnerflora scharf von allen anderen bisher untersuchten Arten. Bei der Ordnung Rodentia selbst zeichnen sich zwei Formenkreise der Flora ab, der der Coliflora und der der *Cellfalcicula*-Flora, wobei sich die letztere in zwei Unterformen aufteilt, deren eine mit, deren andere ohne Spirochätenunterlagerung vorkommt, wie dies aus der beigegeführten Tabelle zu ersehen ist. Zumindest die letzten beiden Formen erfüllen völlig die Bedingungen, wie sie BUCHNER seinem Werk „Endosymbiose der Tiere mit pflanzlichen Mikroorganismen“ voranstellt: „Wir verstehen unter Endosymbiose ein gesetzmäßiges, ohne wesentliche Störungen ablaufendes Zusammenleben zweier verschieden gearteter Partner, bei dem der eine im Körper des anderen, zumeist wesentlich höher organisierten Aufnahme findet und die wechselseitige Anpassung einen solchen Grad der Innigkeit erreicht hat, daß die Vermutung berechtigt ist, es könne sich dabei um eine dem Wirtsorganismus nützliche Einrichtung handeln.“ An der Nützlichkeit der Blinddarmflora kann wohl angesichts der Tatsache nicht mehr gezweifelt werden, daß die Tiere eingehen, wenn man sie am Fressen der im Blinddarm gezüchteten Bakterien hindert oder aber wenn man überhaupt das Wachstum der Flora durch entsprechende Medikamente verhindert. Auch die Funktion der Abwehr fremder Keime ist schließlich eine, beim Meerschweinchen zumindest, nützliche Funktion. Ob der ursprünglich als Hauptfunktion angesehene Zelluloseaufschluß tatsächlich von Bedeutung ist, scheint mir noch nicht mit genügender Sicherheit bewiesen zu sein.

Die gesetzmäßige Zusammensetzung der Flora ist endogen bedingt. Das beweist ihr Entstehen in ihrer definierten Zusammensetzung, obwohl bei der Erstbesiedelung des Neugeborenenendarmes eine Vielzahl von Bakterien zur Auswahl stehen. Es muß vom Wirt eine Begünstigung der erwünschten Keime stattfinden, da anders es nicht zu erklären ist, daß die langsam sich teilenden Keime vor wesentlich rascher wuchernden Mikroben zuerst sich das Feld erobern. Denn die Möglichkeit sich anzusiedeln hätten ja die ubiquitären Colibakterien ebenso, wie die Versuche

mit Penicillinsterilisierung beweisen. Warum der beim Neugeborenen offenbar vorhandene Hemmechanismus gegenüber *Bacterium coli* im späteren Leben nicht mehr in Funktion tritt, war zuerst nicht zu erkennen. Handelt es sich dabei vielleicht um eine Fähigkeit der Darm-schleimhaut, die nach kurzem schon verlorengeht? Die Versuche an den rein milchernährten Neugeborenen scheinen das anzudeuten, da die Resistenz gegen die Colibesiedelung nach 8 Tagen etwa zu schwinden beginnt. Unter normalen Verhältnissen wird allerdings die Coliresistenz des Neugeborenen nicht allzusehr in Anspruch genommen, da ja durch die Aufnahme der Coecotrophe des Muttertieres zusätzlich dafür gesorgt wird, daß die benötigten Symbionten zum Aufbau der erwünschten Flora reichlichst zur Verfügung stehen. Bei den für sich allein bei Kuhmilch- und Heufütterung gehaltenen Tieren war das ja aber nicht möglich und trotzdem kam es, wenn auch etwas verzögert, zum Aufbau einer normalen Blinddarmbesiedelung.

Wenn man Streptomycintieren zusätzlich auch über die Antibiotikumgabe hinaus Polyvitaminkonzentrat verabreicht, entgehen sie der drohenden Colienteritis leichter, wobei anschließend noch zu klären sein wird, ob es sich bei der Colienteritis wirklich um die letale Noxe handelt.

Es ist zu vermuten, daß es sich bei dem oben angedeuteten Hemmechanismus um einen solchen handelt, der durch Vitamin entweder aktiviert wird, oder aber sogar bedingt ist. Beim Neugeborenen wird der dazu nötige Vitaminbedarf durch die Milch des Muttertieres geliefert und ergänzt durch die mütterliche Coecotrophe. Auch durch die Kuhmilch kann der Bedarf zeitweilig gedeckt werden. Auf die Dauer scheint aber deren Gehalt besonders an Pantothersäure ($50 \mu/100 \text{ cm}^3$), der mir nach den geschilderten Versuchen als der wichtigste Faktor erscheint, doch nicht auszureichen.

Die Rolle, die die Pantothersäure möglicherweise auch in dem Zusammenhang Symbiontenflora-Colienteritis spielt, muß meines Erachtens auch noch einmal von einer anderen Seite aus diskutiert werden. Wie eingangs erwähnt, produziert *Bacterium coli* auf der einen Seite Vitamine und hat so als Symbiont des Menschen hohe Bedeutung, auf der anderen Seite benötigt das Bakterium aber selbst auch für seinen Stoffwechsel Vitamine und entzieht damit dem Wirtstier die selbst benötigten Stoffe. Es besteht nun durchaus die Möglichkeit, daß es sich bei dem Schaden, der durch die Überwucherung der Darmflora durch *Bacterium coli* gesetzt wird, letzten Endes nur um einen dadurch hervorgerufenen akuten Vitaminmangel handelt. Das auffällige Übereinstimmen der Latenzperiode bis zum Tode sowohl bei den Versuchen mit Coecotrophiebehinderung als auch bei Penicillinverabreichung spricht dafür. Diese Ansicht wird noch bestärkt durch den relativ geringen

Befund an der Darmschleimhaut, von dem noch dazu ja gar nicht bewiesen ist, ob er primärer oder sekundärer Natur ist. Bei Ratten beobachteten BERG und Mitarbeiter bei Pantothensäuremangel atrophische Erscheinungen an der Darmschleimhaut. Besonders aber auch die Ulcera der Magen- und Duodenalschleimhaut bei den an der Penicillinverabreichung gestorbenen Tiere zeigt gute Übereinstimmung mit den gleichen Symptomen, die ebenfalls BERG beobachtete. Am auffälligsten aber ist der Nebennierenbefund, für dessen Erklärung eine SELYE'sche Alarmreaktion herangezogen wurde. DUMM und Mitarbeiter beschreiben diesen Befund als charakteristisch für Pantothensäuremangel ebenfalls wieder bei Ratten. Ich möchte deshalb zur Diskussion stellen, ob sich nicht der ganze Symptomenkomplex nach den nun vorliegenden Befunden viel zwangloser als bisher allein aus der zentralen Schau des Vitaminmangels erklären läßt.

Damit rücken aber auch wiederum die für die Vitaminsynthese verantwortlichen Bakterien erneut in den Mittelpunkt der Betrachtung. Da eine direkte Züchtung und damit Untersuchung etwa auf Pantothensäure und anderen Vitamingehalt sich als undurchführbar erwies, bleibt nur übrig per exclusionem zu einem Ergebnis zu gelangen.

Zur Diskussion stehen beim Meerschweinchen drei Keime, die für die Vitaminproduktion verantwortlich sein könnten, die drei Keimarten, die zahlenmäßig so stark überwiegen und so vollkommen regelmäßig vorkommen, daß nur sie als Symbionten überhaupt in Frage kommen: *Cellfalcicula*, *Cytophaga* und *Spirochaeta*. Von diesen drei Keimarten zeigt *Cytophaga* die weiteste Verbreitung bei den Nagetieren. Sie kommt auch bei Hausmaus — hier besonders der weißen Laboratoriumsmaus — und Ratte vor, die sich beide als nicht penicillinempfindlich erwiesen haben. *Cytophaga* überlebt auch die Penicillineinwirkung beim Meerschweinchen. Diese Art kann also für die Vitaminproduktion nicht gut in Frage kommen, da ja sonst der Ausfall der verschiedensten Versuche nicht erklärbar wäre. Von den beiden übrigen Arten kommt die *Spirochaeta* bei den Mikrotinen überhaupt nicht vor, würde also bei diesen Arten auch für die Vitaminproduktion nicht in Frage kommen können. Wenn man also nicht annehmen will, daß bei jeder Art ein anderes Bakterium die Rolle des Vitaminlieferanten übernimmt, darf wohl *Cellfalcicula* als der für diese Funktion in Betracht kommende Keim angesehen werden. Damit stimmen alle für diese Frage einschlägigen Experimente überein. Das würde auch der Tatsache entsprechen, daß die Tiere mit *Cellfalcicula*-Flora gegen Entzug der Coecotrophe wesentlich empfindlicher sind als etwa Kaninchen mit ihrer von Sporenbildnern beherrschten Blinddarmbesiedelung. Von ihnen beschreibt HARDER noch nach einer Versuchsdauer von 72 Tagen keine schweren Schädigungen.

Nur in der Gewichtsentwicklung waren die Tiere ohne Grünfütterung beeinträchtigt. Bei diesen Tieren scheint sich also die Abhängigkeit von den Darmsymbionten nicht zu einer derartigen Höhe entwickelt zu haben wie bei den *Cellfalcicula*-Trägern. Wieweit die Abhängigkeit bei den Nagern mit Coliflora geht, bedarf noch der Klärung. Dahingehende Untersuchungen sind bereits angelaufen.

Daß Pantothensäure für sich allein nicht der einzig wichtige Faktor ist, bewiesen die Versuche. Es zeigt sich vielmehr, daß die Symbiontenflora eine ganze Reihe von Vitaminen produzieren muß, um den Erfordernissen des Vitaminbedarfs gerecht zu werden. Ja, die Versuche an Kragentieren bei Grünfütterung beweisen sogar, daß die Flora Vitamine zu liefern imstande ist, die in der natürlichen, auch grünen Nahrung nicht vorkommen. Es ist durchaus denkbar, daß dabei auch vitaminartige Faktoren eine Rolle spielen, die überhaupt noch nicht bekannt sind. Bedauerlich ist nur, daß die Coecotrophe für Extraktionsversuche, wegen ihrer äußerst schleimigen Konsistenz beim Auflösen, ein sehr unhandliches Untersuchungsobjekt darstellt.

Aus all dem ergibt sich, daß beim Nagetierblinddarm noch manches Problem seiner Lösung harrt, das nicht nur bei diesen Tieren selbst, sondern auch darüber hinaus von Interesse sein dürfte.

Zusammenfassung

1. Es wurde die Blinddarmflora verschiedener Vertreter der Ordnungen Lagomorpha und Rodentia untersucht. Dabei konnten 4 Typen von wohldefinierter Zusammensetzung ermittelt werden. Nach dem charakteristischsten Keim sind zu unterscheiden:

a) *Cellfalcicula*-Flora mit Spirochäten (*Cavia*, *Clethrionomys*, *Mesocricetus*).

b) *Cellfalcicula*-Flora ohne Spirochäten (*Microtus*, *Arvicola*, *Pitymys*)

c) Coli-Flora (*Rattus*, *Mus*, *Apodemus*).

d) Sporenbildner-Flora (*Oryctolagus*, *Lepus*).

2. Nahe verwandte Arten weisen den gleichen Typ der Flora auf, jedoch können auch bei weit entfernten Arten Parallelen in der Zusammensetzung auftreten.

3. Die obligaten Darmbakterien erweisen sich als äußerst schwer züchtbar. Weder auf flüssigen, noch auf festen Nährböden, weder aerob, noch anaerob ließ sich trotz zahlreichster Variationen der Nährböden eine Kultur der Keime erzielen.

4. Zur Klärung der Frage, ob die obligaten Darmkeime eine echte symbiontische Bedeutung besitzen, wurde eine Anzahl von Tierversuchen mit Meerschweinchen durchgeführt:

a) Die Behinderung der Tiere, ihren Weichkot zu fressen, führt binnen kurzem zu ihrem Tod. Dieser erfolgt um so rascher, je einseitiger ihre Ernährung ist.

b) Zur Ergänzung wurden mit der Mangelnahrung (Heu) Aneurin und Pantothensäure in Reinsubstanz verabreicht, die sich als unwirksam erwiesen, sowohl jeweils für sich allein, als auch in Kombination das Vitamindefizit auszugleichen.

c) Ein Polyvitaminkonzentrat vermag sämtliche fehlenden Vitamine zu ergänzen, so daß die Tiere die Coecotrophiebehinderung ertragen, ohne Schaden zu nehmen.

d) In der Coecotrophe muß ein Vitamin vorliegen, das selbst in Grünfutter und Körnern nicht enthalten ist.

e) Die Rolle des Blinddarms als Ort der Zelluloseverdauung ist wenigstens hinsichtlich des Kaloriengewinnes durchaus fraglich.

f) Trotz des bekannt hohen Proteingehaltes der Coecotrophe (Bakterieneiweiß) läßt sich eine Notwendigkeit der Coecotrophie aus diesem Grunde nicht beweisen.

g) Für die kontinuierliche Bildung der Coecotrophe sprechen die im Blinddarm beobachteten Keimvermehrungsverhältnisse.

h) Die durch Instinkt geleitete Aufnahme der Coecotrophe eröffnet interessante sinnesphysiologische Perspektiven.

i) Der Aufbau der obligaten Flora ist bereits 36 Std nach der Geburt abgeschlossen. Die Versorgung mit den Keimen erscheint sowohl beim Durchtritt durch die Scheide als auch durch Coecotrophie an der Mutter möglich.

k) Durch verschiedene Antibiotika werden unterschiedliche Teile der Darmflora eliminiert. Dadurch lassen sich in bestimmten Fällen die gleichen Vitaminmangelerscheinungen erzielen wie durch Coecotrophiebehinderung.

5. Es ergaben sich also für das Vorliegen einer echten Symbiose folgende Beweisgründe:

a) Für jede Tierart ergibt sich eine in Form und Häufigkeit charakteristisch zusammengesetzte Flora.

b) Diese ist gegen natürliche äußere Einflüsse relativ resistent.

c) Bei der Erstbesiedelung des Neugeborenenendarmes kommen nur die artcharakteristischen Keime zur Entwicklung, wobei eine deutliche Selektion von seiten des Tieres zu beobachten ist. Die Übertragung erfolgt durch Vagina und Kotfressen gesetzmäßig.

d) Die Kultur der symbiontischen Keime gelang nicht. Das beweist ihr enges Abhängigkeitsverhältnis vom Tier.

e) Auf der anderen Seite beweist das Tier seine Abhängigkeit von den obligaten Blinddarmkeimen dadurch, daß es ohne sie zugrunde geht.

Literatur

BAUMATZ, S.: Über den Bakteriengehalt des Magens und des Dünndarms von gesunden Meerschweinchen. Zbl. Bakter. I Orig. **95**, 191—202 (1925). — BERGEYS, Manual of determinative bacteriology. Baltimore 1948. — COHENDY, M., u. E. WOLLMANN: Expériences sur la vie sans microbes. Élevage aseptique de cobayes. C. r. Acad. Sci. Paris **158**, 1283—1284 (1914). — BUCHNER, P.: Endosymbiose der Tiere mit pflanzlichen Mikroorganismen. Stuttgart 1953. — EDEN, A.: Coprophagy in the rabbit. Nature (Lond.) **145**, 36—37 (1940). — GLIMSTEDT, G.: Das Leben ohne Bakterien. Sterile Aufzucht von Meerschweinchen. Anat. Anz., Erg.-H. **75**, 79—89 (1932). — Der Stoffwechsel bakterienfreier Tiere. I. — Allgemeine Methodik. Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) **73**, 48—62 (1936). — Bakterienfreie Meerschweinchen. Aufzucht, Lebensfähigkeit und Wachstum, nebst Untersuchungen über das lymphatische Gewebe. Acta path. scand (Københ.) Suppl. **30** (1936). — Die Gewinnung von Meerschweinchenmilch. Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) **76**, 148—157 (1937). — GROSSMANN, W.: Das Verhalten des *Bacterium coli* im Darm des Meerschweinchens. Diss. München 1952. — GUTSCHER, H.: Über experimentelle Coliascendenz im Dünndarm des Meerschweinchens. Zbl. Bakter. I Orig. **123**, 448—456 (1932). — HARDER, W.: Zur Morphologie und Physiologie des Blinddarms der Nagetiere. Verh. dtsch. Zool. **1949**, 95—109. — HARDER, W., I. FRANK u. U. HARDELER: Zur Ernährungsphysiologie der Nagetiere. Über die Bedeutung der Coecotrophie und die Zusammensetzung der Coecotrophe. Pflügers Arch. **253**, 173—180 (1951). — HERRELL, W. E., u. E. SCHULZE: Penicillin und andere Antibiotica. Stuttgart: S. Hirzel 1949. — KILLIAN, H.: Die Penicilline. Arzneimittelforsch. **4** (1948). — KOCH, E., F. HEISS u. R. SCHNEIDER: Medizin **2**, 1184 (1952). — KÜSTER, E.: Die keimfreie Züchtung von Säugetieren und ihre Bedeutung für die Erforschung der Körperfunktionen. Zbl. Bakter. I Ref. **54**, 55—58 (1912). — Die Gewinnung und Züchtung keimfreier Säugetiere. Dtsch. med. Wschr. **1913**, 1586—1588. — Aufzucht keimfreier Säugetiere. In E. ABDERHALDEN: Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Bd. IV, 419—436. 1925. — MANGOLD, E.: Die Bedeutung der Magen- und Darmsymbionten der Wirbeltiere. Erg. Biol. **19**, 1—81 (1943). — METSCHNIKOFF, O.: Note sur l'influence des microbes dans le développement des tétards. Ann. Inst. Pasteur **15**, 631—634 (1901). — MIESCHER, A., u. C. BÖHM: Schweiz. med. Wschr. **1947**, 821. — NUTTAL, G., u. H. THIERFELDER: Tierisches Leben ohne Bakterien im Verdauungskanal. Z. physiol. Chem. **21**, 109—121 (1895/96). — PEARSON, P. B.: The effect of coprophagy on the excretion of B-Vitamins by the rabbit. J. Nutrit. **49**, 639—645 (1953). — REYNIERS, J. A.: The use of germ-free guinea pigs in bacteriology. I. Preliminary report concerned especially with technique. Proc. Indiana Acad. Sci. **42**, 35—37 (1932/33). — REYNIERS, J., TH. TREXLER and R. ERVIN: Rearing germ-free albino rats. Lobund Rep. **1**, 1—84 (1946). — Germ-free life applied to nutrition studies. Lobund Rep. **1**, 87—120 (1946). — ROLLE, M., u. H. MAYER: Über das Wesen der Penicillinwirkung bei Meerschweinchen unter besonderer Berücksichtigung der Darmsymbionten. Arch. f. Hyg. **137**, 596 (1953). — Untersuchungen über die Darmflora des Meerschweinchens. Arch. f. Hyg. **138**, 505 (1954). — ROSS, W. C., and L. C. SMITH: The roll of alimentary microorganisms in the synthesis of nonessential

aminoacids. J. of Biol. Chem. **187**, 687—695 (1950). — RUSCHMANN, E.: Tierexperimentelle Untersuchungen zur Frage der Penicillintoxizität, 1., 2., 3. Mitt. Z. Hyg. **140**, 248—349 (1954). — SCHEUNERT, A., u. K. ZIMMERMANN: Bakterielle Synthese im Blinddarm und Koprophagie beim Kaninchen. Arch. Tierernähr. **2**, 217—222 (1953). — TAYLOR, E.: Pseudo-rumination in the rabbit. Proc. Zool. Soc. Lond. **110**, 159—163 (1941). — TONUTTI, E.: Zbl. Neur. **112**, 140 (1950). — TONUTTI, E., u. H. MATZNER: Klin. Wschr. **1950**, 516. — WINOGRADSKY, S.: Études sur la microbiologie du sol. Ann. Inst. Pasteur. **43**, 549—633 (1929).

Dr. WILHELM KELLNER, Nürnberg, Wirthstr. 12

Lebenslauf

Am 8. Dezember 1914 wurde ich in Nürnberg als Sohn des Ingenieurs Hans Kellner und seiner Ehefrau Therese geboren. Von 1921 bis 1925 besuchte ich die Volkshauptschule und anschließend die neun Klassen des Realgymnasiums in Nürnberg. Im November 1934 immatrikulierte ich mich an der Universität Erlangen zum medizinischen und naturwissenschaftlichen Studium und bestand im Oktober 1935 den ersten Teil und im Februar 1937 den zweiten Teil der ärztlichen Vorprüfung. Im Wintersemester 1937/38 studierte ich in Freiburg, im Sommersemester 1938 in Kiel und kehrte dann wieder nach Erlangen zurück, wo ich 1939 das medizinische Staatsexamen ablegte. Zum Dr. med. promovierte ich an der Universität Prag im März 1942.

Im Sommer 1954 immatrikulierte ich wieder an der Universität Erlangen, um das naturwissenschaftliche Studium zu Ende zu führen.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten: Haßelwander, Gudden, Pummerer, Schwemmle, Mangold, Pratje, Mattaei, May, Hett, Kirch. v. Angerer, Grewing, Königer, Goetze, Jamin, Müller, Wintz, Dyroff, Schübel, Hauck, Molitoris, Stammer.

